

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

Étude *in vitro* de l'activité inhibitrice des extraits de
quelques plantes locales sur l' α -amylase

Présenté par :

Bougheouat Aya

Rabhi Bouchra Dalila

Devant le jury :

Président(e) : Benaceur Farouk ; MAA

Rapporteur : Khacheba Ihen ; MCA

Co-Rapporteur : Boussoussa Hadjer ; MCB

Examinatrice : Kraza Lamia ; MAA

Soutenu publiquement le : 08/05/2018.

DEDICACE

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

A cœur vaillant rien d'impossible

A conscience tranquille tout est accessible

Quand il y a la soif d'apprendre tout vient à point à qui sait attendre

Quand il y a le souci de réaliser un dessein tout devient facile pour arriver à nos fins

Malgré les obstacles qui s'opposent

En dépit des difficultés qui s'interposent

Les études sont avant tout

Notre unique et seul atout

Ils représentent la lumière de notre existence

L'étoile brillante de notre réjouissance

Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal

Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal Espérant des lendemains épiques

Un avenir glorieux et magique

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis

Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri

Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys, Nous prions dieu qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail. Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed, Paix et Salut sur lui, le seau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam

Je dédie cette thèse à ...

A les esprit de tout les martyrs algériens

A Mes très chère parant

Affables, honorables, aimables : vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'ont pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon très cher marée Dadi

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises. Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

Mes chères petites sœurs Radia, Khoulod et nour

Présentes dans tous mes moments d'examens par leur soutien moral et leurs belles surprises sucrées. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour

A mes chers collègues de classe de 2^{année} master biochimie applique

Bien que ce rapport soit fondamentalement un travail individuel, il n'aura pu être menée à bien sans une équipe de collègues de classe qui ont contribué au bon fonctionnement et avec les quels il est possible d'échanger des conseils et des suggestions, et qui assurent une atmosphère de travail donnant envie de se lever chaque jours

Bouchra Dalila



Je dédie ce travail

*À Mon mari **Hassen** , Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour , la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Cher mari j'aimerais bien que tu trouve dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour...*

*À mama **Nassima** qui est la bougie de ma vie , qu'elle m'a éclairé mon chemin durant toutes ces longues années d'étude et m'a aidée dans les pires moments , que dieu la protège pour ses patiences, son amour et ses encouragements.*

*À mon très cher père **Mohamed**, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation, il m'a donné la confiance, le courage et la sécurité, j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

À mes frères : Housseem, Ala-Eddine , Anis et Zakaria.

À ma petite sœur lina. .

À mes collègues d'étude sans exception.

À ma grande famille chacun avec son nom.

Aya



Remerciement

A nos Encadreurs

Dr. Khacheba Ihcen

Dr. Boussoussa Hadjer

Vos compétences, votre encadrement ont toujours suscité nos profonds respects. Nous vous remercions pour votre accueil et vos conseils. Veuillez trouver ici, l'expression de notre gratitude et de notre grande estime.

Nous voulons également remercier et exprimer nos profonds respects aux membres du jury qui ont bien voulu nous faire l'honneur d'examiner la qualité de ce travail et de formuler leurs remarques constructives

A tous les enseignants et enseignantes du département de biologie en particulier

Dr . Benarouse Khedidja

Dr. Gouzi Hicham

et Dr. Benaceur Farouk

A tous nos amis et à tous ceux qui nous ont connus, aimés, appréciés et encouragés de près ou de loin pendant tout notre cursus

Liste des abréviations

ADA	:	Association Américaine du Diabète
ADO	:	Antidiabétique Oral DPP-4 : Dipeptidyl peptidase de type 4
DCM	:	Dichloromethane
DNS	:	3.5 - Dinitrosalicylique
EAG	:	équivalent d'acide gallique
EQ	:	équivalent en quercetine
FMD	:	Fédération Marocaine du Diabète
FMT	:	Fréquence Théorique Maximale GLP-1 : Glucagon-like peptide-1
HAS	:	Haute Autorité de Santé
HBA1C	:	Hémoglobine glyquée
IAG	:	Inhibiteurs des Alphaglucosidases
IC₅₀	:	Inhibition Concentration at 50
IDF	:	Fédération Internationale du Diabète
MHD	:	Mesures Hygiéno-diététiques
MS	:	matière sèche
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé

Table des matière

Introduction générale	2
Chapitre I : Aperçus bibliographique	4
I. Plantes à intérêt médicinale	5
I.1.1. Définition.....	5
I.1.2 Principes actifs	5
I.2. le diabète	6
I.2.1. définition	6
I.2.2. classification du diabète	6
I.2.3 Traitement	7
A. Traitement de diabète type I.....	7
B.Traitement de diabète type II.....	7
B.1.Thérapeutique moderne (antidiabétiques oraux).....	7
B.2.Thérapeutique traditionnel (Plantes hypoglycémiantes).....	8
B.3. Inhibition de l'α-amylase.....	9
Chapitre II : partie expérimentale	10
II.1. Matériels végétal	11
II.2. Prétraitement des échantillons	17

II.3. Préparation des extraits	17
II.4. Dosages des composés phénoliques	18
II.4.1. Dosages des phénols totaux.....	18
II.4.2. Dosages des flavonoïdes.....	18
II.5. Etudes d'effet d'inhibition sur l'α- amylase.....	19
II.5.1. principe de la méthode de dosage par le DNS.....	19
II.5.2. Test d'inhibition.....	20
II.5.3. Etude de pouvoir anti-amylasique	20
Chapitre III : résultats et discussion	22
III.1. Préparation des extraits	23
III.2. Dosage des composés phénoliques	25
III. 3 Effet d'inhibition des six plantes sur l'α-amylase	27
III.3.1. Test d'inhibition	27
III.3.2. Etude de pouvoir anti-amylasique	28
Conclusion générale.....	33
Références biologiques	36
Annexe formulaire et exploitation	42

Liste des figures

Figure I.1	Les mécanismes d'action des plantes médicinales et leurs évaluations thérapeutiques.	9
-------------------	--	----------

Liste des tableaux

Tableau I.1.	Classement des antidiabétiques oraux	8
Tableau II.1.	Systematique, description, utilisation et principes actifs des plantes investiguées	12
Tableau III.1.	Partie utilisé, teneurs, aspects et couleurs des extraits bruts des six plantes investiguées.	24
Tableau III.2	Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différents extraits des six plantes étudiées.	26
Tableau III.3.	Valeurs des IC ₅₀ des extraits des six plantes étudiées vis - à vis de l'α – amylase	29

Résumé :

Notre étude rentre dans le cadre d'une contribution à la mise en valeur du règne végétal de la région de Laghouat comme source de substances bioactives naturelles. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à six plantes locales (*Ammodaucus leucotrichus*, *Asphodelus microcarpus*, *Atractylis delicatula*, *Bubonium graveolens*, *Cistanche tinctoria* et *Ruta tuberculata*). La première démarche dans cette étude, consistait en une extraction et une quantification des composés phénoliques ensuite nous avons étudié leurs effets inhibiteurs sur l' α – amylase.

Le contenu en phénols totaux est compris entre 0.03et 7.73 mg en équivalent d'acide gallique / g de la matière sèche. Tandis que le contenu en flavonoïdes exprimé en équivalent de la rutine est compris entre 0.03et 2.10 mg/g.

Tout les extraits ont montré des effets inhibiteurs sur l' α – amylase, avec des valeurs d'IC₅₀ qui varient de 0.01 à 13.20 g /l dont la meilleure inhibition (IC₅₀ = 0,01 mg /ml). a été enregistré pour les extraits : acétate d'éthyle, méthanol et éthanol des échantillons de *Atractylis delicatula* et *Ruta tuberculata* et *Cistanche tinctoria L* respectivement

Ce travail a fourni de nouvelles connaissances au sujet des plantes locales de plus il a permis de mettre en évidence le rôle des polyphénols naturels dans la normalisation des troubles glycémiques.

Mots clés : plantes spontanées, composés phénoliques, flavonoïde, effet inhibiteur, α -amylase.

Introduction

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'Homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago., 2006**). Les végétaux synthétisant des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides et acide nucléiques), ils accumulent fréquemment une vaste gamme de composés organiques dits « métabolites secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie, l'agroalimentaire et la cosmétique (**Macheix *et al.*, 2005 ; Croteau *et al.*, 2000**).

En raison, de leur diversité moléculaire (environ 12000 molécules) et de leurs propriétés biologiques importantes tels que l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire, l'activité antimicrobienne et l'activité anti-diabétique ...etc. ; ces métabolites constituent une source inépuisable d'agents thérapeutiques pour lutter contre diverses pathologies (**Samy et Gopalakrishnakone., 2008**). Parmi lesquels en note le diabète sucré qui est l'une des principales causes de décès dans la plupart des pays développés, en développement ou récemment industrialisés (**Ma *et al.*, 1997**).

Le diabète, et notamment le diabète de type 2 (DT2), touche 5,9 % de la population adulte mondiale. En Algérie plus de trois millions de population sont diabétiques. Selon les dernières statistiques de la direction de la prévention au ministère de la santé algérienne (**Bonora *et al.*, 2006; Msante., 2011**). Cette glycémie postprandiale peut contribuer indirectement aux complications du diabète, en particulier les maladies cardiovasculaires responsables de la majorité des décès liés au diabète (**Grimaldie., 1999**).

Le traitement actuel du diabète sucré qui vise à soigner et non à guérir la maladie, présente beaucoup d'effets secondaires associés à des coûts excessifs ce qui représente un échec des traitements pharmaceutiques conventionnels. De ce fait, et malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques pour les diabétiques dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés (**De Smet *et al.*, 2002; Eisenberg., 1993**).

Diverses plantes sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes par des populations diabétiques à travers le monde, suivant en cela des considérations historiques, culturelles et économiques.

Introduction générale

Ayant une position géographique privilégiée, l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée appartenant à plusieurs Familles botaniques. A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques) et sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) .

Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie et plus particulièrement du Sahara et du sub-sahara présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles.

Dans ce cadre et pour enrichir les banques de données des plantes antidiabétiques le présent travail, est consacré à la valorisation phytochimique de six plantes spontanées locales à savoir : (*Ammodaucus leucotrichus*, *Asphodelus microcarpus*, *Atractylis delicatula*, *Bubonium graveolens*, *Cistanche tinctoria* et *Ruta tuberculata*), qui consiste à étudier leurs extraits phénoliques. Le choix de ces plante est basé sur le fait qu'elles ne sont pas connue chez les herboristes dans le traitement du diabète, malgré leur utilisation à une échelle très réduite et que quelques études on été entreprise pour la valorisation de ces plante.

L'objectif est d'évaluer de notre l'activité inhibitrice des extraits de ces plantes sur une d'hydrolase responsable du processus digestif des hydrates de carbone à savoir l' α - amylase. Dont l'inhibition, prolongent l'hydrolyse des hydrates de carbone, réduisant ainsi le taux d'absorption du glucose afin d'éviter la monté de son taux plasmatique. Ce qui présentera une éventuelle source d'antidiabétiques naturels.

Cette étude, est une continuité pratique d'un travail théorique sous forme d'une enquête ethnobotanique réalisé par nous même sur les plantes antidiabétiques locale utilisées par la population locale de la ville de Laghouat ; au prés de 25 herboristes connaisseurs en médecine alternative et prés de 100 patients atteint du diabète, en adoptant un formulaire sous forme de questionnaire et ceci durant un mois pour le projet de fin d'étude de licence 2016. Cette enquête nous a permis de recenser 20 plantes (Voir Annexe).

La première partie de ce mémoire est consacrée à un aperçu bibliographique général sur les plantes médicinales et leurs principe actifs, le diabète et l'inhibition de l' α - amylase. La deuxième partie est réservée à la description du protocole expérimenta L'interprétation et la discussion des résultats obtenus sera présentée dans la dernière partie.

Synthèse
bibliographique

I. 1. Plantes à intérêt médicinal

I.1.1. Définition

Dans le code de la Santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Gahbiche., 2008**) Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago., 2006**).

I.1.2. Principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (**Pelt., 1980**).

Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou ., 2012**). Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**Sarnimanchado et Cheynier., 2006**). Ces composés sont les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins) les terpènes et les stéroïdes, les composés azotés dont les alcaloïdes, les Saponosides, les huiles essentielles (**Sarnimanchado et Cheynier., 2006**).

I.2. Le diabète

I.2.1. Définition

Le diabète, est une maladie métabolique responsable de graves problèmes de santé publique. Il s'agit d'une affection chronique se traduisant par un taux élevé de sucre dans le sang (**Deteix., 2005**). Le diabète apparait lorsque la concentration du sucre est supérieure à 1,27 g/l (7 mmol/l) (**Grimaldi.,2000**).

I.2.2 Classification du diabète

- Il existe différents type de diabète selon leur diagnostique :

- a. **Le diabète type I** : Il est défini par une disparition profonde ou totale de l'insulino-sécrétion endogène pancréatique d'origine auto-immune (**Martin., 2006**).
- b. **Le diabète gestationnel** : il est définie par la présence d'un trouble qui survient parce que l'action de l'insuline est inhibée, probablement par les hormones produites par le placenta, ce qui provoque une insensibilité à l'insuline (également appelée insulino - résistance), souvent vers la 24^{ème} semaine. (**Nam Han Cho., 2013**).
- c. **Le diabète pancréatique il survient suite à une** pancréatite chronique qui est une inflammation chronique du pancréas durant plus de 6 mois, avec des modifications irréversibles du pancréas. (**Wucher et al.,2015**).
- d. **Les diabètes médicamenteux** Plusieurs médicaments peuvent induire un pré diabète ou un diabète, en particulier chez des sujets à risque, en inhibant la sécrétion d'insuline et/ou en bloquant ses effets périphériques. Ils peuvent aussi aggraver l'hyperglycémie en cas du diabète installé. Ce sont principalement les corticoïdes, les immunosuppresseurs, certains antipsychotiques en particulier la clozapine et l'olanzapine, ainsi dans le traitement de l'infection par le VIH, certains rétroviraux (**Martin., 2006**).
- e. **Les diabètes liés à un dysfonctionnement de la cellule β d'origine génétique.**
 - Les diabètes de type MODI : ces diabètes ressemblent au diabète de type 2 dans leurs expression clinique mais surviennent avant l'âge de 30 ans. Physio pathologiquement, il existe dans les MODI un défaut génétique primaire de l'insu lino - sécrétion.
 - Le diabète mitochondriale : est une forme de diabète à transmission exclusivement maternelle. C'est une mutation ponctuelle de l'ADN mitochondrial en position 3243 qui on est responsable. (**Martin.,2006**)

f. Le diabète type II Le diabète de type II est la forme la plus courante de la maladie. Il touche généralement les adultes mais et de plus en plus souvent observé chez les enfants et les adolescents. Chez les personnes atteintes du diabète de type II, l'organisme est capable de produire l'insuline, mais soit la quantité de l'insuline est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang (**NamHanCho.,2010**)

I.2.3. Traitement

A. Traitement du diabète de type I

Le principal traitement consiste à remplacer à vie l'insuline qui fait défaut. Le but est d'imiter, grâce à plusieurs injections, la sécrétion d'insuline normale. De plus, la dose quotidienne d'insuline, qui dépend de nombreux paramètres (âge, poids, stade de la puberté, habitudes de vie...), doit être réévaluée régulièrement.

Différents types d'insuline sont sur le marché :

- **Les insulines rapides** (effet de l'insuline après 35 à 60 minutes et durée d'action de 5 à 8 heures)
- **Les analogues rapides de l'insuline** (effet après 15 à 35 minutes et durée d'action de 3 à 5 heures) L
- **Les insulines intermédiaires** (effet après 2 à 4 heures et durée d'action de 12 à 24 heures) et les analogues lentes de l'insuline (effet après 2 à 4 heures et durée d'action de 24 heures) et, enfin, les insulines pré-mélangées (mélanges d'insuline ou d'analogue rapide et d'insuline intermédiaire).

B. Traitement du diabète de type II

B.1. Thérapeutique moderne (antidiabétiques oraux)

Lorsque les règles hygiéno-diététiques ne sont pas suivies ou insuffisantes, un traitement médicamenteux peut devenir nécessaire. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'actions : augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, diminution de l'absorption de glucose ou augmentation de la sécrétion de l'insuline. Plusieurs familles d'anti-diabétiques oraux existent. (**Hamza., 2011 ; Prabhakar et Doble., 2001**).

Plusieurs classes thérapeutiques de médicaments antidiabétiques existent reposant sur des mécanismes d'action différents, administrées seules ou associées entre elles (Tableau I.1).

Tableau I.1. Classement des antidiabétiques oraux (Delforges *et al.*, 2004)

Classe	mécanisme d'action	effet secondaire possible	moment optimum de la prise
Sulfamide	stimulent la sécrétion d'insuline	hypoglycémie (éviter de sauter un repas)	avant le repas (mais plus de 30 min avant)
glinides	stimulent la sécrétion d'insuline, mais d'une façon plus rapide et plus courte que les sulfamides	hypoglycémie (ne pas prendre le comprimé si un repas est sauté)	avant le repas (pas plus de 15 min avant)
Biguanides	réduisent la production de glucose par le foie et favorisent l'action de l'insuline sur les tissus.(muscle)	troubles digestifs (diarrhée, gout métallique)	au moment du repas améliore la tolérance digestive.
Inhibiteurs des alpha-glucosidases	retardent l'absorption des glucides ingérés	trouble digestifs (ballonnements,flatulence)	avant la première bouchée du repas.

B.2. Thérapeutique traditionnel (Plantes hypoglycémiantes)

Les hypoglycémiantes de synthèse sont susceptibles de causer beaucoup d'effets secondaires, de ce fait la recherche est en quête d'une nouvelle alternative naturelle pour surmonter ces effets secondaires. Traditionnellement, un certain nombre de plantes ont été employées dans la gestion du diabète et les effets hypoglycémiantes de quelques unes d'entre elles seulement ont été confirmés scientifiquement (Okokon *et al.*, 2012).

Les plantes antidiabétiques ont divers effets sur le corps humains et agissent à différents sites (Arulselvan *et al.*, 2014) :

- Améliorer l'absorption de glucose par **les tissus adipeux**
- Diminution de la production de glucose dans **le foie**
- La sécrétion d'insuline dans **le pancréas**
- Inhibition de l'absorption du glucose dans **l'intestin**
- Augmentation de l'absorption périphérique de glucose du sang **aux muscles et tissus.**

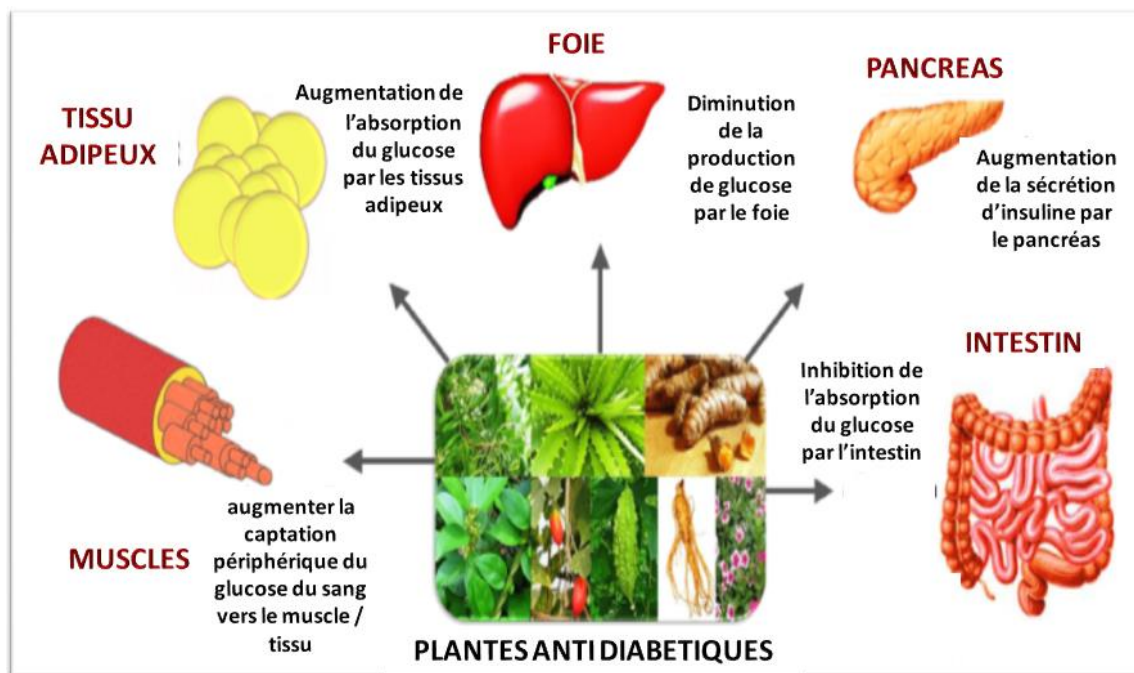


Figure I.1. Les mécanismes d'action des plantes médicinales et leurs évaluations thérapeutiques.

B.3. Inhibition de l' α -amylase

L'inhibition des α -amylases induit l'intolérance des carbohydrates, la satiété et la perte de poids, et prolonge le vide gastrique, ils ont ainsi un potentiel thérapeutique pour le traitement de l'obésité et du diabète non insulino-dépendant (Gerrard *et al.*, 2000). Les niveaux de glucose des diabétiques peuvent être contrôlés après des repas par l'administration d'un inhibiteur tel que l'acarbose. C'est un pseudotétracosaccharide qui a une forme proche de celle des oligosaccharides issus de la digestion de l'amidon. Il peut ainsi se lier aux sites des α -glucosidases de la bordure en brosse intestinale et l' α -amylase pancréatique, inhiber puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (Scheen *et al.*, 2002).

Les composés phénoliques végétaux et en particulier les flavonoïdes sont doués d'une activité inhibitrice vis-à-vis de l' α -amylase (Sales *et al.*, 2012 ; Tundis *et al.*, 2010). Comme les anthocyanines et ellagitannins présent dans la framboise et les fraises sont des inhibiteurs de l'activité d' α -glucosidase et α -amylase, respectivement. (Mcdougall *et al.*, 2005).

Ces dernières années, beaucoup d'efforts ont été faits pour identifier des inhibiteurs efficaces de l' α -amylase à partir des ressources naturelles afin de développer de nouveaux composés antidiabétiques pour le traitement du diabète (Kumar *et al.*, 2011).


Partie expérimentale


II.1. Matériel végétal

Notre étude, a été réalisée sur six plantes spontanées locales du Sahara et du sub Sahara. Les plantes ont été achetées chez un herboriste local et qui sont récoltées dans les wilayas de Laghouat et Ghardaïa. Les informations relatives à chaque plantes sont résumées dans le Tableau II.1.


Ces plantes n'ont pas fait l'objet d'études sur leurs activités inhibitrices d'enzyme et notamment sur l' α – amylase.

Tableau II.1. Systématique, description, utilisation et principes actifs des plantes investiguées.


<i>Ruta tuberculata</i>	
Systématique (Wiart., 2006; Bonnier., 1999; Takhtajan., 2009)	Photo
Règne: Planta	 <p style="text-align: right; font-size: small;">Photo: A. CHEHMA</p> <p style="text-align: center; font-size: x-small;">OUED METLILI : Avril 2002</p>
Sous règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)	
Division: Magnoliophyta (plantes à fleurs)	
Classe Magnoliopsida (dicotylédons)	
Sous classe : Rosidae	
Ordre : Sapindales	
Famille : Rutaceae	
Genre : Ruta	
Espèce : <i>Ruta tuberculata</i> L.	
Nom vernaculaire: الفيجل	
(Chehma ., 2006)	
Description botanique	
<p>Ruta vient du grec « rhyté» qui signifie sauvé, prévenir. Ou de « reô» qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues (Doerper., 2008). Plante herbacée appartient à la famille Rutaceae, de 20 à 50cm de haut, tiges très rameuses dans leur partie supérieure, feuilles petites lancéolées cunéiformes pourvues de grosses glandes tuberculeuses saillantes, larges de 0,5- 0,7mm et très allongées enroulées en dessous par leurs bords. La face supérieure des feuilles ainsi que les tiges sont couverts de pustulés sécrétant une essence extrêmement malodorante (plante très fétide) (Quezel., 1963), Petites fleurs jaunâtre en corymbe au sommet de la tige, à quatre pétales s'épanouissent en corymbe à l'extrémité des tiges (Chehma., 2006). Commun dans tout le sahara septentrional, dans les dépressions un sablonneuses, jusqu'au Tademaït au sud; semble absent ou très rare dans le Sahara central et méridional (Ozenda.,1991)</p>	
Utilisation en médecine traditionnelle	
<p>Elle est surtout réputée pour ses vertus médicinales, ses feuilles, ses tiges et son inflorescence sont utilisées, en décoction, en cataplasme et en pommade contre les piqûres de scorpions, et pour les traitements des spasmes digestifs, des algies articulaires, et des accouchements difficiles (Baba aissa., 1999).</p> <p>20 Le Rue est très recherchée pour parfumer le thé sèche et pilée, on l'utilise en faible quantité comme condiment (Bilderback., 2007). On parfume parfois le beurre de chèvre avec ses tiges en procédant comme avec l'aynasnis: en petite quantité, son odeur est agréable (Lemoine., 2001).</p>	
Principes actifs	
<p>La partie aérienne est très riche en tanins, moyennement riche en alcaloïdes et flavonoïdes (Belkheir et al., 2009).</p>	

<i>Cistanche tinctoria L</i>	
Systematique (Quezel et Santa., 1963)	Photo
Régne : plante	 <p style="text-align: center;">Photo: A. CHEHMA Avril 2002 Photo: A. CHEHMA Avril 2006</p> <p style="text-align: center;">OUED MANSOURA (Chehma., 2006)</p>
Embranchement: Spermatophytes	
Classe : Eudicots	
Sous classe : Astéridées	
Ordre : <u>Lamiales</u>	
Famille : <u>Orobanchaceae</u>	
Genre : <u>Cistanche</u>	
Espèce: <i>Cistanche tinctoria L</i>	
Nom français : cistanche	
Nom arabe : دانون	
Description botanique	
Parasite sur Chénopodiacées, plus rarement sur les Tamarix , c'est une plante puissante de 3 à 12 dm ,aux tiges souvent en touffes. Les fleurs, ainsi que toute la plante sont jaunes .Le tube de la corolle s'évase brusquement au dessus de l'insertion des étamines (OZENDA.,2004)	
Utilisation en médecine traditionnelle	
La partie aérienne de <i>Cistanche tinctoria L</i> est utilisée en décocté contre le diabète, les maux d'estomac et les diarrhées. La partie souterraine de cette plante à propriété aphrodisiaque (Hammiche et Maiza., 2006) est consommée sous forme de farine (Baba Aissa., 2011). Elle sert aussi de condiment (Maiza et al., 1993)	
Principes actifs	
<i>Cistanche tinctoria L</i> est rîche a les alcaloïdes,et flavonoïdes,et Tanins , et Saponines et les Anthocyanines (Bouchouka., 2016).	

<i>Asteriscus graveolens</i>	
Systématique (Hakim.,2012)	Photo
Régne : Plantae	 <p style="text-align: right; font-size: small;">Photo: A. CHEHMA</p>
Embranchement : racheophyta	
Classe : Magnoliopsida	
Sous classe : Asteridae	
Ordre : Asterales	
Famille : Asteraceae	
Genre : Asteriscus	
Espèce: <i>Asteriscus graveolens</i>	
Nom français : asterolide du désert	
Nom arabe : طفس	
Description botanique	
C'est une plante et médicinale vivace à odeur forte ; pouvant atteindre 60 cm et formant des touffes bien étalées sur le sol ; Les feuilles florales sont plus larges que les caulinaires. Les inflorescences sont allongées plus au moins espacées à la base et les fleurs jaunâtres sont de petites tailles. (Benabid., 2000 ; Chebli., 2003),	
Utilisation en médecine traditionnelle	
Cette plante a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, les déséquilibres des tractus gastro-intestinaux, les douleurs céphaliques, la bronchite et comme anti-inflammatoire (Cheriti., 2000).	
Principes actifs	
Huiles essentielles	

<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	
Systématique (Quezel et Santa (1963))	Photo
Régne : plante	
Embranchement : Angiospermes	
Classe : Eudicots	
Sous classe : Astéridées	
Ordre : Apiales	
Famille : Apiacée	
Genre : Ammodaucus	
Espèce: <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	
Nom français : Cumin vélu	
Nom arabe : أم دريقة	
http://www.sahara-nature.com	
Description botanique	
<p><i>Ammodaucus leucotrichus</i> est une plante glabre, annuelle, à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées et petites; fruits très velus, portant de longs poils crépus, jaune-roux à la base, puis blancs, et longs de 8 à 10 mm. Assez commun dans tout le Sahara (Ozenda., 1991).</p>	
Utilisation en médecine traditionnelle	
<p>Ses principales utilisations sont contre : les maux d'estomac, l'indigestion, les diarrhées, les vomissements, les spasmes et coliques, les vers intestinaux et la constipation (Merzouki <i>et al.</i>, 2000 ; Didi <i>et al.</i>, 2003 ; Fakchich et Elachouri., 2014).</p>	
Principes actifs	
Huiles essentielles (Velasco-Negueruela <i>et al.</i> , 2006)	

<i>Asphodelus microcarpus</i>	
Systématique (Zellagui .,1998)	Photo
Régne : Plantea	
Embranchement : Spermaphytes	
Sous_embranchement : Angiosperme	
Classe : Monocotyledones	
Ordre : Liliiflorae	
Famille : liliaceae	
Genre : Asphodelus	
Espèce: <i>Asphodelus microcarpus</i>	
Nom arabe : برواق	
www.jardinage.lemonde.fr	
Description botanique	
Plante vivace de 1 mètre de hauteur environ. Les feuilles longues et étroites ayant une largeur de 1 à 4 cm et une longueur de 50 à 60 cm. Les fruits sous forme de petites capsules un peu rétrécies à la base à valves minces, elliptiques à bords plans. Les racines sont fortement renflées en forme de navets.(Bruneton ., 1993)	
Utilisation en médecine traditionnelle	
En Algérie, les racines fraîches de l'Asphodèle macérées dans de l'huile servent à traiter les otites. La poudre sèche de ces racines est utilisée en cataplasmes dans les douleurs des rhumatismes. En mélange avec l'orge, la poudre d'Asphodèle est conseillée comme diurétique (Ghileb .,1987)	
Principes actifs	
Alcaloïdes ; Lipides ; Glucides. (Zellagui., 1998).	

<i>Atractylis delicatula</i>	
Systématique	Photo
Régne : Plantea	 <p style="text-align: right;">Photo: A. CHEHMA</p> <p style="text-align: center;">OUED METLILI : Mai 2002</p> <p style="text-align: center;">(Chehma., 2006)</p>
Embranchement : Tracheophyta	
Classe : <u>Magnoliopsida</u>	
Super ordre : <u>Asteranae</u>	
Ordre : <u>Asterales</u>	
Famille : Asteracees	
Genre : <u>Atractylis</u>	
Espèce : <i>Atractylis delicatula</i>	
Nom français : /	
Nom arabe : ساق الغراب	
Description botanique	
Plante vivace de 20 à 30 cm de haut, à tige étalée à la base ainsi que les feuilles inférieures. Feuilles Toutes très épineuses, épine d'un rouge vermillon très vif. Fleurs blanc- rosé.	
Utilisation en médecine traditionnelle	
Pas d'utilisations signalées. Intérêt pastoral : C'est une plante broutée, en petites quantités, par les dromadaires .	
Principes actifs	
Non connus	

II. 2. Prétraitement des échantillons

Après récupération des six plantes de chez les herboristes, les échantillons secs de chaque plante (partie aérienne excepté la plante *Asteriscus graveolens* pour la quelle nous avons utilisé les fleurs) ont été broyés et tamisés en vue d'obtenir la même granulométrie, et conservés jusqu'à extraction.

II.3. Préparation des extraits

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée par fractionnement par une série de solvants à polarité croissante selon le protocole suivant : une masse de 1 g de chaque poudre végétale a été d'abord macéré dans l'hexane jusqu'à épuisement à température ambiante et à

l'obscurité dans un but de dépigmentation et de délipidation. L'extrait est filtré puis le résidu est repris pour une série de macération dans des solvants à polarité croissante à savoir : dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol successivement pendant 72 h à température ambiante et à l'obscurité. Ce qui nous a donc permis d'obtenir six extraits organiques bruts.

L'extrait brut est évaporé à l'étuve à 45°C, les extraits ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux, de couleur verte, jaune et orange. Les résidus secs sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

II.4. Dosage des composés phénoliques

II.4.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu commercial. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_{40}$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Giner-Chavez., 1996**).

Pour réaliser le dosage, 100 µl de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont mélangés à 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après deux minutes d'incubation, 2 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 sont ajoutés. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type BIOCHROM LIBRA S6, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance sont proportionnelles à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche.

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes ont été mesurées par une méthode adaptée de **Lamaison et Carnat (1991)** en utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) comme réactif. (**Bahorun., 1997**).

Pour réaliser le dosage, 500 µl de chaque solution diluée a été mélangée à 500 µl d'AlCl₃ puis incubé à la température ambiante pendant 20 minutes. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues sont proportionnelles à la quantité de flavonoïdes présente dans nos extraits. Et les résultats sont présenté en mg équivalent quercétine /g de matière sèche.

II.5. Etude d'inhibition sur l'α-amylase

Dans la présente étude, on s'intéresse à l'évaluation de l'effet des extraits (des plantes investiguées) sur l'activité enzymatique de l'α - amylase d'un champignon *Aspergillus oryzae*.

Dans le cas de cette enzyme la mesure de l'activité enzymatique revient à un dosage spectrophotométrique direct du produit libéré par unité de temps lors de l'hydrolyse du substrat, dans des conditions de température et de pH favorables.

II.5. 1. Principe de méthode de dosage par le DNS

L'activité enzymatique de l'α – amylase est dosée sur son substrat l'amidon. Elle catalyse l'hydrolyse de ce substrat qui libère de la dextrine limite, du maltose et de l'isomaltose. Le maltose libéré est dosé spectrophotométriquement.

La méthode est basée sur le pouvoir réducteur des groupements aldéhydes et cétones libre des sucres. En milieu alcalin et a chaud, l'oxydation des ces fonctions provoque simultanément la réduction l'acide 3,5-dinitrosalicylique de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Benfeld., 1955 ;In Negi et Baner., 2006**).

Chaque molécule de maltose libérée dans le milieu réactionnel, réagit avec le DNS en excès de couleur orange entraînant une réduction de ce dernier, induisant en parallèle un changement de couleur en rouge brique dont l'intensité mesurée après dilution à 540 nm est proportionnelle à la quantité en maltose.

II.5. 2. Test d'inhibition

Avant de procéder à l'étude de l'activité inhibitrice de nos extraits vis-à-vis de l' α - amylase, nous les avons soumis des tests d'inhibition question de juger leur potentiel inhibiteur envers l' α – amylase, c'est-à-dire l'étude de leur comportement sur l'activité enzymatique (augmentation ou diminution) et quel pourcentage d'inhibition ils pouvaient atteindre.

Dans des tubes à essais les milieux réactionnels contenaient : 200 μ l d'une solution de tampon phosphate salé à pH : 6.9, 100 μ l du substrat l'amidon et 100 μ l de chaque extrait. Les tubes sont ensuite placés pendant 5 minutes à 37 °C, il s'en suit l'ajout de 100 μ l de l'enzyme suivie d'une incubation de 5 min. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout du DNS, le milieu réactionnel est ensuite porté à ébullition à 100 °C pendant 5 min, après refroidissement le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau distillée. Les absorbances sont ensuite mesurées à 540 nm avec le même spectrophotomètre.

Un contrôle a été préparé de la même façon sans inhibiteur.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon du test}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

A_{control} : Absorbance du contrôle sans inhibiteur.

$A_{\text{échantillon du test}}$: Absorbance de l'échantillon du test.

II.5. 3. Étude du pouvoir anti-amylasique

L'activité inhibitrice confirmée par le test précédant, nous a encouragés de procéder à l'étude de l'activité anti – amylasique pour tous les extraits organiques, en vue de déterminer pour chaque extrait le paramètre IC_{50} .

Pour cela, nous avons varié la concentration en extraits. L'activité inhibitrice des extraits est mesurée comme décrit précédemment en introduisant 100 μ l des différentes concentrations variables d'extraits.

La représentation graphique de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits phénoliques, permet de déterminer les valeurs d'IC₅₀ pour chaque extrait (voir annexe).

Résultats et discussion

III.1. Préparation des extraits

Chaque partie choisie pour l'extraction de chaque plante a subi la même procédure de délipidation et de dépigmentation par l'hexane jusqu'à épuisement et d'extraction.

L'extraction des principes actifs des plantes étudiées, a été effectuée par une série de solvant à polarité croissante à savoir : l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et le méthanol successivement. Les teneurs et les couleurs de chaque extrait bruts sont consignés dans le (Tableau III.1).

D'après les résultats de l'extraction, on remarque que tous les extraits ont montré des aspects visqueux de différentes couleurs variant du vert, jaune à l'orange.

Les extraits ont enregistré des valeurs de teneurs d'extraction différentes d'une plante à une autre allant de 0,16 % pour l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Atractylis delicatula* et 19,82 % pour l'extrait éthanol de la plante *Asphodelus microcarpus* ; cette différence de teneur entre les différentes plantes pour une même extraction peut être expliquée par le changement des caractéristiques et la composition des plantes et même de la granulométrie et des interactions solide-liquide (solvant). Ces différences peuvent être liées également à la saison de récolte où les contraintes abiotiques sont différentes (la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques d'agents pathogènes.....) ou à des facteurs liés aux procédures d'extraction employées en tenant compte la durée d'extraction, le type du contact matière-solvant, la taille des particules de l'échantillon, l'agitation et la température (Chehema., 2006)

Si on compare les teneurs d'extraction entre les différents solvants d'extraction utilisés dans cette étude, on remarque également une variation d'un solvant à un autre où les extraits éthanol ont présenté les teneurs les plus élevées entre 5,8 et 19,82 %, suivis par les extraits méthanol et dichlorométhane entre 1,53 et 82 % et 1,1 et 7,1 % successivement, alors que les plus faibles valeurs ont été retrouvées chez l'extrait acétate d'éthyle entre 0,16 et 2,18 %. Et que pour chaque plante les teneurs enregistrées pour l'extraction par l'éthanol est

supérieure aux teneurs chez le reste des solvants. Ceci est peut être attribuée au fait que la majorité des solutés sont extractible à l'éthanol dont la nature et la capacité de dissolution permettent une forte liaison entre les molécules du solvant et des composés de l'extrait provoquant leur dissolution.

Tableau III.1. Teneurs et couleurs des extraits bruts des six plantes investiguées.

Extrait	Plante	Couleur	Teneur (%)
Dichloromethane	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Jaune claire	7,1
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	Orange foncé	2
	<i>Atractylis delicatula,</i>	Jaune claire	3,2
	<i>Asteriscus graveolens</i>	Vert militaire	1,1
	<i>Cistanche tinctoria</i>	Vert militaire	2
	<i>Ruta tuberculata</i>	Jaune claire	3,3
Acétate d'éthyle	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Jaune claire	0,77
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	Orange foncé	1,8
	<i>Atractylis delicatula,</i>	Jaune claire	0,16
	<i>Asteriscus graveolens</i>	Vert militaire	0,47
	<i>Cistanche tinctoria</i>	Vert militaire	2,87
	<i>Ruta tuberculata</i>	Jaune claire	0,11
Ethanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Vert militaire	10,4
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	Orange foncé	19,82
	<i>Atractylis delicatula,</i>	vert	10,1
	<i>Asteriscus graveolens</i>	Vert militaire	7,53
	<i>Cistanche tinctoria</i>	Vert militaire	7,8
	<i>Ruta tuberculata</i>	Vert	5,8
Methanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Jaune claire	1,53
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	Orange foncé	3,6
	<i>Atractylis delicatula,</i>	Jaune	5,3
	<i>Asteriscus graveolens</i>	Vert militaire	82,3
	<i>Cistanche tinctoria</i>	Vert militaire	4,6
	<i>Ruta tuberculata</i>	Vert	2,62

En conclusion, on constate que le rendement d'extraction dépend de la méthode d'extraction, des caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés et notamment leur polarité, il s'en suit que la solubilité des substances contenus dans la matière végétale dépend de ces propriétés.

III.2. Dosage des composés phénoliques

Avant toute étude d'activité inhibitrice, nous avons effectué un dosage des phénols totaux sur les différents extraits préparés à partir de six plantes.

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par le réactif Folin-Ciocalteu et les teneurs ont été exprimé par mg EAG/ g de matière sèche. Quant au dosage des flavonoïdes, nous avons utilisé le trichlorure d'aluminium comme réactif et les teneurs ont été exprimé par mg EQ/ g de matière sèche.

Le tableau III.2, résume les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes pour chaque plante.

D'après la synthèse des résultats obtenus pour la quantification des composés phénoliques, on constate que les teneurs en phénols totaux ont varié entre 0.03et 7.73 mg EAG/g MS. L'extrait d'Ethanol de la plante *Cistanche tinctoria* a enregistré les teneurs les plus élevée en phénols totaux dans : 7.73 mg GAE / g de MS. Et pour le dosage des flavonoïdes, les teneurs ont varié entre de 0.03 et 2.10 mg EQ/g de MS.

Si on compare les teneurs en flavonoïdes à celles des teneurs en composés phénoliques pour tout les extraits, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, silènes...). Quelques plantes ont montré leur richesse en flavonoïdes à savoir: *Cistanche tinctoria*, *Asteriscus graveolens* De plus nous remarquons que les teneurs en phénols et en flavonoïdes sont très proches ce qui peut être expliqué par le fait que presque tout les phénols extrait sont des flavonoïdes, excepté le cas de l'extrait dichlorométhane de la plante,de *Cistanche tinctoria* ou la teneur de flavonoïdes est supérieure a cella des phénols totaux, ce résultat pourrait être expliquer par le fait que la plante *Cistanche tinctoria* contient des compose autre que les flvonoides possédant des structures chimiques similaires aux flavondides et qui on pu absorber à la même longueur d'onde.

Les résultats ont révélé que les taux en phénols totaux et en flavonoïde varient d'une part avec le solvant utilisé pour l'extraction et d'autre part pour l'espèce végétale. Ces variations sont probablement liées à un facteur écologique qui concerne, l'espèce, le sol, le climat et les périodes de récolte. Ces facteurs peuvent jouer un rôle dans la teneurs de ces composés phénoliques

Des études réalisées au laboratoire des sciences fondamentales, sur une espèce végétale récolté de la même région que les plantes investigué et ayant utilisé la même procédure d'extraction par solvant à polarité croissante réalisée dans notre étude a montré des teneurs presque similaire (Khacheba., 2014).

Tableau III.2. Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différents extraits des six plantes étudiées.

Extrait	Plante	Teneur en Phénols Totaux (mg/g) EAG	Teneur en Flavonoïdes (mg/g) EQ
Dichloromethane	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	1.45±0.02	0,03±0,04
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	0,47±0,04	0,52±0,03
	<i>Atractylis delicatula,</i>	0,57±0,01	0,38±0,06
	<i>Asteriscus graveolens</i>	0,05±0,14	0,46±0,12
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0,19±0,01	0,78±0,15
	<i>Ruta tuberculata</i>	0,30±0,00	0,05±0,01
Acétate d'éthyle	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	0,43±0,02	0,14±0,07
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	0,39±0,06	0,25±0,07
	<i>Atractylis delicatula,</i>	0,59±0,10	0,31±0,04
	<i>Asteriscus graveolens</i>	0,66±0,02	0,21±0,07
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0,38±0,01	0,14±0,08
	<i>Ruta tuberculata</i>	0,27±0,01	0,07±0,01
Ethanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	1,03±0,33	0,50±0,08
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	1,71±0,08	0,75±0,35
	<i>Atractylis delicatula,</i>	1,09±0,49	1,03±0,51

	<i>Asteriscus graveolens</i>	0,60±0,10	0,42±0,09
	<i>Cistanche tinctoria</i>	7,73±2,19	0,88±0,13
	<i>Ruta tuberculata</i>	1,31±0,40	0,15±0,05
Methanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	1,38±0,56	0,54±0,46
	<i>Asphodelus microcarpus</i> ,	1,40±0,55	0,62±0,11
	<i>Atractylis delicatula</i> ,	1,81±0,14	0,25±0,05
	<i>Asteriscus graveolens</i>	2,45±0,21	1,11±0,15
	<i>Cistanche tinctoria</i>	7,09±1,51	2,10±0,96
	<i>Ruta tuberculata</i>	0,93±0,07	0,51±0,34

III. 3. Effet d'inhibition des six plantes sur l' α – amylase

III.3.1. Test d'inhibition

En vue de repérer les plantes ayant une capacité inhibitrice vis-à-vis l' α - amylase, des tests d'inhibitions *in vitro* ont été effectués pour chaque extrait. Dans notre étude, l'activité enzymatique de l' α -amylase a été mesurée sur son substrat, l'amidon. Les différents taux d'inhibition calculés sont résumés dans le tableau III.3.

Après analyses des résultats obtenus, nous avons constaté que tous les extraits préparés présentent un potentiel d'inhibition vis-à-vis de l' α – amylase à différents taux d'inhibition.

Les valeurs calculées, montrent que la majorité des pourcentages d'inhibition des extraits sont supérieures à 40 % excepté les extraits : dichlorométhane de la plante *Asphodelus microcarpus*, acétate d'éthyle de la plante *Ammodaucus leucotrichus* et éthanol des plantes *Asteriscus graveolens*, *Atractylis delicatula* et *Ammodaucus leucotrichus* dont les pourcentages n'ont pas dépassé 20 %. Nous avons constaté que les extraits éthanol et méthanol de la plante *Ruta tuberculata* ont présenté un pouvoir d'inhibition vis-à-vis de l' α -amylase avec des pourcentages très élevés compris de 80 %. Cette différence enregistrée est due à la différence de structures des composés extraits qui n'auront pas le même mécanisme d'action ou à l'excitance dans les extraits à faible pourcentage des molécules gênantes (encombrement stérique) qui sont responsables de ces faibles pourcentages.

La synthèse des différents résultats, montre nettement que le pouvoir d'inhibition vis-à-vis de l' α -amylase est un caractère spécifique pour chaque extrait qui peut varier selon sa composition et la structure des molécules responsables à l'activité.

III.3.2. Étude du pouvoir anti-amylasique

Après avoir confirmé l'existence d'activité inhibitrice pour chaque extrait par le test précédent, nous avons procédé à l'étude de l'activité anti – amylasique ; afin de déterminer pour chaque extrait et dans les mêmes conditions réactionnelles le paramètre IC_{50} qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer la vitesse réactionnelle jusqu'à 50% de sa valeur maximale non – inhibée.

Pour cela, nous avons varié la concentration en inhibiteurs et nous avons introduit 100 μ l des différentes concentrations.

Les représentations graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits (voir annexe), nous ont permis de déterminer les valeurs d' IC_{50} pour chaque extrait que nous avons regroupés dans le tableau III.3

Tableau III.3. Valeurs des IC₅₀ des extraits des six plantes étudiées vis - à vis de l'α - amylase

Extrait	Plante	IC ₅₀ (g/l)
Dichloromethane	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	ND
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	9.97±0.33
	<i>Atractylis delicatula,</i>	0.15±0.01
	<i>Asteriscus graveolens</i>	0.07±0.00
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0.02±0.09
	<i>Ruta tuberculata</i>	0.44±0.05
Acétate d'éthyle	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	ND
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	1.06±0.02
	<i>Atractylis delicatula,</i>	0.01±0.00
	<i>Asteriscus graveolens</i>	0.07±0.00
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0.07±0.00
	<i>Ruta tuberculata</i>	0.03±0.00
Ethanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	1.58±0.09
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	1.27±0.68
	<i>Atractylis delicatula,</i>	11.74±0.28
	<i>Asteriscus graveolens</i>	13.20±0.18
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0.01±0.01
	<i>Ruta tuberculata</i>	1.09±0.02
Methanol	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	1.53±0.01
	<i>Asphodelus microcarpus,</i>	0.68±0.01
	<i>Atractylis delicatula,</i>	0.67±0.01
	<i>Asteriscus graveolens</i>	0.79±0.05
	<i>Cistanche tinctoria</i>	0.51±0.08
	<i>Ruta tuberculata</i>	0.01±0.01

ND : Non déterminé

Les valeurs d'IC₅₀, ont variée globalement entre 0.01 et 13.20 g/l. Les extraits acétate d'éthyle et méthanol ont enregistré de meilleurs IC₅₀ par rapport aux autres extraits notamment ceux de l'éthanol ceci, peut être attribuée à la présence d'un groupes de molécules polaire dont la structure est différente leurs conférant une activité inhibitrice plus efficace. L'explication de la faible activité des extraits éthanol peut être attribuée à l'existence de molécules à caractère apolaire les rendant moins actifs vis-à-vis de l'enzyme.

Nous avons constaté un résultat très intéressant concernant les plantes *Atractylis delicatula* et *Ruta tuberculata* et *Cistanche tinctoria L*, ces dernières ce sont montré de très bon inhibiteur car elles ont enregistré les plus faible valeurs d'IC₅₀ 0,01 mg/ml pour l'extraction à l'acétate d'éthyle, méthanol et éthanol respectivement ; ceci peut être expliqué par la richesse de ces plantes en molécules spécifiques qui sont responsable de l'inhibition de l' α -amylase.

Les inhibiteurs d'enzyme peuvent agir selon des mécanismes varies, en se combinant soit avec l'enzyme (inhibition compétitive ou incompétitive) , soit avec le complexe enzyme substrat (non compétitive), soit avec le substrat lui-même (**Weinman et al., 2004**). L'activité enzymatique peut être affectée de façon spécifique par de nombreux agents chimiques et les drogues tels que l'acarbose qu'a une forme proche de celle des oligosaccharides issus de la digestion de l'amidon, Il peut ainsi se lier aux sites de l' α -amylase pancréatique, inhiber puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (**Scheen et al., 2002**).

L'activité inhibitrice enzymatique de plusieurs plantes est due aux composés polyphénoliques (**Tundis et al., 2010**). Plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' α - amylase tels que les tannins qui sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber (**Kandra., 2004**). De ce fait, on comparant les résultats de l'activité inhibitrice aux résultats de dosage en phénols totaux nous avons remarqué que les teneurs en phénols totaux et les valeurs en IC₅₀ varient de manière inversement proportionnelle, car pour des extraits riche en phénols totaux on remarque une faible inhibition vis-à-vis de l'enzyme. On prend comme exemple , l'extrait éthanol de la plante *Atractylis delicatula* dont la quantité est élevée en polyphénols et en flavonoïdes inhibent faiblement l' α -amylase d'autre part, l'extrait dichlorométhane de la plante *Ruta tuberculata* est pauvre en phénol et en flavonoïde, inhibent fortement l' α -amylase. De ce fait on peut dire que les polyphénols et les flavonoïdes ne sont pas les seules molécules qui influent sur l'activité enzymatique de l' α -amylase, et qu'il est probable qu'une synergie entres différents métabolites est responsable de l'inhibition. D'autre part on peut

supposé également que l'inhibition est une relation structure fonction et non structure quantité.

Nos résultats sur l'activité inhibitrice vis-à-vis de l' α - amylase de la plante *Ammodaucus leucotrichus* et un éventuel effet antidiabétique sont en accord avec les travaux sur la même plante de Bouallala et ces collaborateurs (**Bouallala et al., 2014**)

La plante *Asteriscus graveolens* a connu plusieurs études et plusieurs activités biologique et vertus thérapeutique on été découvertes on peut citer :

- L'activité antifongique (**Hakim., 2012**)
- l'infusion (une poignée de plante dans un verre d'eau) de la plante entière est utilisée, en gargarisme, pour calmer les maux de dents et de gencives, dans le même but, on mastique des feuilles fraîches. La poudre de feuilles, prise par le nez, est indiquée contre les migraines. La décoction (une poignée de plante dans une théière) de la plante est employée par les femmes pour combattre la stérilité (**Bellakhdar et al., 1987**) .
- Cette plante a été utilisée dans la médecine traditionnelle au Sahara pour traiter la fièvre, les déséquilibres des tractus gastro-intestinaux, les douleurs céphaliques, la bronchite et comme anti-inflammatoire (**Cheriti, 2000**).
- Selon Le Floc'H 1983), la plante est utilisée dans le traitement de la blennorragie et dans le traitement des coliques et des gastralgies. Cette espèce est très appréciée des ovins et des dromadaires.

C'est également le cas de l'espèce *Ruta tuberculata* qui est une espèce végétale très connue pour ses vertus thérapeutiques variées. Les feuilles, les tiges et les inflorescences de Rue sont utilisées en décoction, en cataplasme et en pommade contre les piqûres de scorpions, dans le traitement des spasmes digestifs, des algies articulaires et des accouchements difficiles (**Mazia et al., 1993 ; Oueld el hadj et al., 2003**) La plante est employée au Maroc , en usage externe sous formes d'infusé , parfois mélangé à du jus de citron , en tampons appliquer dans les cas de saignements de nez et en cataplasmes sur la tête dans les cas de la migraine (**Ait ., 2006**). Il a permis de mettre en évidence à travers une analyse phytochimique, la richesse de ces plantes en composés phénoliques. Les travaux de (**Bensaci., 2016**) montre que la plante ayant une des activités antibactérienne et antioxydante importante.

D'un autre côté, une étude in vivo sur l'espèce Pour *Cistanche tinctoria* a montré d'un extrait aqueux de la plante possède un effet antidibétique et antioxydant (**Bouzitouna et al., 2015**).

La plante *Asphodelus microcarpus* également est connue par des vertus curative en divers pays dans le monde qu'on peut citer :

- Au Maroc, la décoction des racines est utilisée contre toutes les formes d'abcès et la décoction de feuilles en cataplasmes contre les rhumatismes (**Baba Aissa., 1991**).
- En Inde Kotb (1983), rapporte que l'Asphodèle est utilisée pour traiter l'ulcère gastrique chez l'homme en lui faisant absorber la poudre de la plante séchée dans un verre de lait.
- En Algérie, les racines fraîches de l'Asphodèle macérées dans de l'huile servent à traiter les otites. La poudre sèche de ces racines est utilisée en cataplasmes dans les douleurs des rhumatismes. En mélange avec l'orge, la poudre d'Asphodèle est conseillée comme diurétique (**Ghileb., 1987**).
- Quand à la propriété curative la plus certaine et confirmée par de nombreux travaux (**Boukef .,1988 ; Ghileb .,1987 ; Baba Aissa .,1991**) est l'utilisation du suc de la racine de l'Asphodèle dans le traitement des mycoses cutanées.

Nos résultats sur la plante *Asphodelus microcarpus* sont en accord avec les travaux sur la même plante de Tounsi Lynda et bensegueni et ces **collaborateurs (Tounsi et bensegueni .,2001)**.

A tout ces travaux nous avons prouvez pour la première fois l'effet inhibiteur de ces plantes sur l' α – amylase et une éventuelle utilisation comme antidiabétique.

Conclusion

Conclusion

La phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor important du fait de la découverte de plus en plus d'extraits de plantes efficaces dans le traitement du diabète. L'utilisation d'extrait de plantes est une pratique courante en médecine traditionnelle africaine (Jaykar *et al.*, 2003). A cet effet, nous nous sommes intéressés à six plantes spontanées locales (*Ammodaucus leucotrichus*, *Asphodelus microcarpus*, *Atractylis delicatula*, *Bubonium graveolens*, *Cistanche tinctoria* et *Ruta tuberculata*), compte tenu de la nouveauté de leur étude, leur valorisation s'impose.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une extraction organique par cinq solvants à polarité croissante (hexane, dichloromethane, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol) pour les six plantes choisies. Dans un second lieu nous avons procédé à la quantification des composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques. Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode de folin – Ciocalteu. Tandis que l'évaluation des composés flavonoïdiques a été effectuée par dosage complexométrique avec le trichlorure d'aluminium.

Les résultats d'analyses du contenu en phénols totaux ont montré des teneurs variant respectivement entre 0.03 et 7.73 mg en équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche et entre 0.03 et 2.10 mg équivalent en quercétine par gramme de la matière sèche. Dont on peut conclure que ces plantes sont en possession d'un matériel riche en flavonoïdes.

Nous avons pu mettre en évidence *in vitro* et pour la première fois, l'effet inhibiteur des extraits de ces plantes sur l' α – amylase. Les résultats obtenus à travers ce test montrent que la majorité de ces plantes présentent des effets inhibiteurs importants, avec des pourcentages d'inhibition supérieure à 40 % et allant jusqu'à 80 %.

L'étude cinétique de l'inhibition a montré des inhibitions vis-à-vis de l'activité catalytique de l'enzyme, avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du g/l. Les valeurs de ces paramètres varient entre 0,01 et 13,24 g/l

Le résultat le plus important de cette étude est l'effet inhibiteur *in vitro* de la plante *Atractylis delicatula* qui jusqu'à présent n'a fait l'objet d'aucune étude de point de vue activité biologique. De plus la plante a présenté la meilleure valeur en IC₅₀ : 0,01 g/l

Conclusion

temps, il faut signaler qu'il reste encore beaucoup de plantes locales utiles qui n'ont pas été étudiés et qui mériteraient d'être investiguées dans les domaines étudiés. Il est également possible d'élargir le panel de tests biologiques.

En fonction de nos résultats on peut envisager l'utilisation de ces plante en thérapie traditionnelle comme antidiabétique à condition de faire des tests *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et d'étudier l'effet synergique des extraits pour améliorer l'index thérapeutique

Le mécanisme d'action des extraits de plante sur l'activité enzymatique n'est pas bien élucider, ce que forme un terrain pour de nouvelles recherches pour mieux élucider les principes d'interaction et d'inhibition a l'échelle moléculaire. En effet il est souhaitable de compléter et d'approfondir le travail par une étude phytochimique plus développée (techniques chromatographiques et spectroscopiques) afin d'isoler et d'identifier les différents composés chimiques responsables de ces activités.

Il est même possible, de développer la culture végétale de ces plantes en utilisant des techniques sophistiqués pour améliorés la quantité de ces molécules.

Ce travail a fourni un complément aux connaissances ethno pharmacologiques et phytochimiques des plantes spontanées locales et a permis de mettre en évidence encore une fois le rôle des polyphénols naturels dans la normalisation des troubles glycémiques.

*Références
bibliographiques*

Références

- **Ait, Y., (2006).** Plante médicinale de Kabylie. Ed : Ibis press, paris. P 313-316.
- **Arulselvan, P., Aynurliyana, H., Ghofar ,A., Karthivashan, G., Mohd F,A; Syafiq ,M., Fakurazi ,S., (2014).** Biomédecine & Preventive Nutrition 4 (607–617).
- **Baba Aïssa F., (1991).** Les plantes médicinales en Algérie Co-édition Bouchème et A Diwan. Pp 69
- **Baba Aïssa F., (1999)** .Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Alger: 243 - 244.
- **Baba Aïssa, F., (2011).** Encyclopidie des plantes utiles. Editions El Maarifa, Alger.
- **Bahorun.T., (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Journal of Food and Agricultural Research, Page 83 - 94.
- **Belkheir, M., et Bourouba, M., (2009).** Testes phytochimiques de l'activité antifongiques des huiles essentiels des deux plantes algériennes *Mentha pulegium et Ruta graveolens*.
- **Bellakhdar, J., Baayaoui, A., Kazdari, A., Marechal, J., (1987).** Herboristes et médecine traditionnelle à Tissint, oasis présaharien du Sud Marocain (province de Tata). Al Biruniya. 3 (1), 7-50.
- **Benabid, A., (2000).** Flore et écosystème du Maroc, évaluation et présentation de la biodiversité. Ibis Press, paris. 359 p.
- **Benghanou, M., (2012).** La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Memoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.
- **Bensaci ,S.,(2016).** Contribution à l'étude de la vertu thérapeutique desextraits de quelques plantes utilisées dans la médecine populaire de la région de Ouargla.
- **Bilderback L., (2007)-** Spices and Herbs, Ed alpha books: 177-178.
- **Bonnier G.,(1999)-** La Grande Flore en Couleur. Ed 2, BELIN, Tome 3: 205 - 206

Références bibliographiques

- **Bouallala, MI , Bradali L1 et Abid M2(2014).**Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf
- **Boukef. K., Ghileb ,G.M., (1988)** Contribution à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle Maghrébine. Bull. Med. Pharma 2(1) pp. 47- 55.
- **Bouzitouna,A., ; Ouali,K., Djeddi ,S.,(2015).** Protective Effects of *Cistanche tinctoria* Aqueous Extract on Blood Glucose and Antioxidant Defense System of Pancreatic β -cells in Experimental Diabetes in Rats.
- **Chebli, B., (2003).** Etude chimique et antifongique de plantes médicinales marocaines et valorisation des plantes endémiques de la région du Souss. Thèse de Doctorat National de l'Université Med V-Soussi, Faculté de médecine et de pharmacie. 187 p.
- **Chehma A., (2006)-** Catalogue des plantes spontanées du sahara septentrional algérien. Dar Elhouda, (AinM'lila): 106.
- **Cheriti, A., (2000).** Plantes médicinales de la région de Bechar, sud ouest Algérie : Etude Ethnopharmacologique. Rapport CRSTRA, Algérie.
- **Croteau R.,; Kutchan T.,et Lewis, N., (2000).** Natural products (Secondary Metabolites). *American Society of plant physiologists*, 24,p.1251-1254.
- **Delforges,P., Halary ,A ., Berdeu, D.,(2004).**Surveillance infirmière.6^{ème} édition de lamarre.p234.
- **Deteix.,2005.,** traitement/hypertension artérielle-contenue. france.
- **Didi,O.M.,Hadj-Mahammed,M.,Zabeirou,H.(2003).** Place of the spontaneous plants samplesin the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara), Courrier du Savoir \pm N°03, Janvier, 47 \pm 51.
- **Doerper S., (2008),**Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique, Thèse de Nancy, Université INRA: 12 - 34.
- **Elmouloud B.,(2016)**thèse de doctorat en science (Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes
- **Fakchich, J., Elachouri, M. (2014).** Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in oriental Morocco to manage various ailments, *JEthnopharmacol*, 154 (1), 76 \pm 87
- **Gahbiche S., (2008).**la phytothérapie

Références bibliographiques

- **GHILEB. G.M (1987)** Les plantes dans la médecine traditionnelle Maghébine. Dip. D'études Comp. De phytothérapie Tunis. pp 8-14-71-78
- **Grimaldi A., (2000).** Questions d'internat, Diabétologie. Faculté de médecine Pierre Marie Curie Paris. France. P : 15-19
- **Grimaldie,A., (1999).** Diabétologie, faculté de médecine Pierre et Marie Curie.142p.
- **Hakim .,A (2012).** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens subsp. Odorus (Schousb.) Greuter et Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.*
- **Hamliche, V., Maiza, K. (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. J. Ethnopharmacol, 105: 358–367.
- **Hamza, N.,(2011).** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J.169p.
- **Jayakar B, Suresh B. (2003).** Antihyperglycaemic effect of *Aporosa Lindleyana* in normal and alloxan induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology; 84(2-3), 247-249.
- **Kandra, L., Guémant G., Zajacz, A., Batta, G., (2004).** Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. Biochemical and Biophysical Research Communication. (319): 1265- 1271.
- **Khacheba, I. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante et étude du pouvoir d'inhibition sur l' α - amylase et l' α – glucosidase des extraits naturels de la plante *Genista*. Thèse de doctorat L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger, pp 36
- **KOTB.F (1983).** Médicinal plant in Lybya. Arabe encyclopédia House. Beirut Lebnan. pp230
- **Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakash, O., (2011).** α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. Pharmacognosy Reviews. 5(9): 19-29.
- **Le Floc'H, E(1983).** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Pub. Sci. Tunis. Programme Flore et Végétation Tunisiennes. 2 Part. Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, 402 p.
- **Lemoine E., (2001)-** Les plantes aromatiques et médicinales, Ed Molière, (Paris): 92.

Références bibliographiques

- **Maiza, K., Brac de la Perrière, R.A. et Hammiche, V. (1993).** Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique. Actes du 2eme Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11eme Conférence internationale d'Ethnomédecine, **Marcheix J., et Fleuriet A. et Jay-Allemand, C.(2005).** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires Romandes. pp : 87-149.
- **Martin B., (2006).**Diabétologie clinique.de Boeck.188p.
- **Maw,G.,Tan,R.X.,Fuzati,N.,Liq.S.,Wolfender,J.L.,HosttmanK.,(1997).**Natural occurring and synthetic polyynes glycosides. *Phytochemistry*, 45(2): 411- 415.
- **Merzouki, A.U., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J. (2000).** Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district NW Morocco, *Fitoterapia*, 71, 278±307.
- **Nam Han Cho.,(2013).**Atlas de diabète de la FID.160p
- **Okokon J.,Antia B.,Udobang J.,(2012).**Antidiabetic activities of ethanolic extract and fraction of anthocleista djalensis.P461-464.
- **Ould el hadjm. D., Hadj-mahmmed M. et Zabeirou H., 2003.-** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est).*Courrier du savoir* vol3 : 47-51.
- **Ozenda P., (2004).** Flore et végétation du Sahara. CNRS Editions.
- **Peltj. M., (1980).** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.
- **Prabhakar, P.K et Doble,M.,(2011).** Mechanism of action of natural products used in the treatment of diabetes mellitus.*The Chinese journal of integrated traditional and western medicine press and springer-verlag*, p 563-574.
- **Quezel P., et SANTA S.,(1963).**- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 670p.
- **Sales, P. M., Souza, P.M., Simioni, L. A., MagaJhes, P.D.O., Damaris, S.,(2012).** α amylase Inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Pharmaceut Sci.* 15(1): 142-183.
- **Samy, R., et Gopalakrishnako ,P.(2008).** Therapeutic Potential of plants as Anti-microbial for Drug Discovery. *CAM Advance Access published*, p.1-12.

Références bibliographiques

- **Sanago ,R., (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- **Sani-manchado P., et Veronique C., (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.
- **Scheen A.J., Letiexhe M.R., Geronooz ,I., Paquot, Jandrain N, B. (2002).** Hyperglycémie Poste- Principale. Approches thérapeutiques médicamenteuses. Rev Med Liege; 57: 4: 196-201..
- **Tounsi,L ., et bensegueni .A,(2001).** Etude in vitro de l'effet antibactérienne et antifongique de : *Inula viscosa* ; *Lawsonia Inermis* ; *Asphodelus microcarpus* ; *Aloe vera* ; *Juniperus oxycedrus*.
- **Tundis ,R., Loizzo. MR., Menichini F. (2010).** Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. Mini Rev Med Chem, 10:315-331.
- **Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M.J., Pérezde Paz, P.L., Palá-Paúl, J., Sanz, J. (2006).** Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the fruits of
- **Weinman,S.,etMéhul,P., (2004).**Toute la Biochim.
- **Wiar C., 2006-** Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future, Ed: World Scientific: 401 - 416.
- **Wucher ,H ., Faucher, P., Lemoine, Larger ,É ., (2015) .**Diabète et
- **Zellagui.A (1998) Etude phytochimique et génétique sur Asphodelus microcarpus SALZM and viv de l'Est Algérien.** Thèse de Magister.Université de Constantine 9-24-121-132

Références bibliographiques

Annexe

Annexe

Questionnaire N°

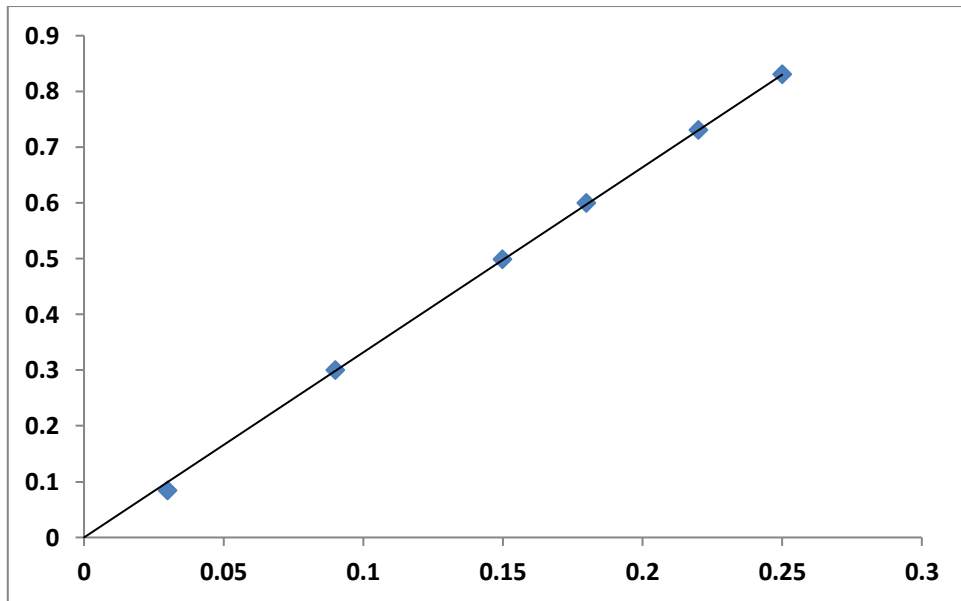
Section A

Date	Région	Sexe	Age	Niveau d'éducation			
				Analphabète	Primaire	Secondaire	Académique

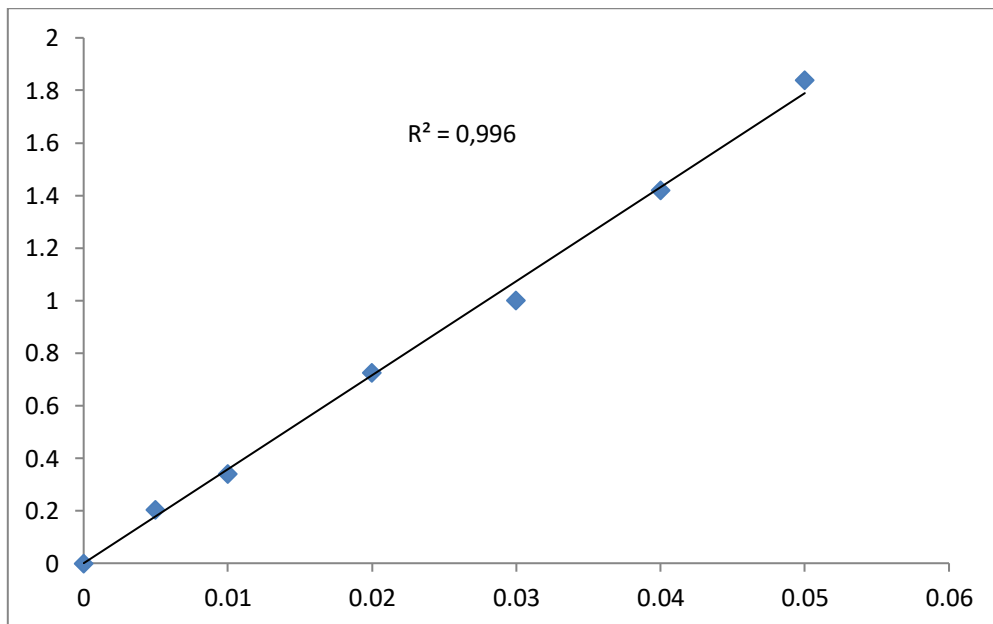
Section B

	Non scientifique de la plante				nom commun vernaculaire)		
Autre utilisation (type de maladie)							
Mode d'utilisation	infusion	Décoction	Fumigation	Macération	Poudre	Crème	Bain

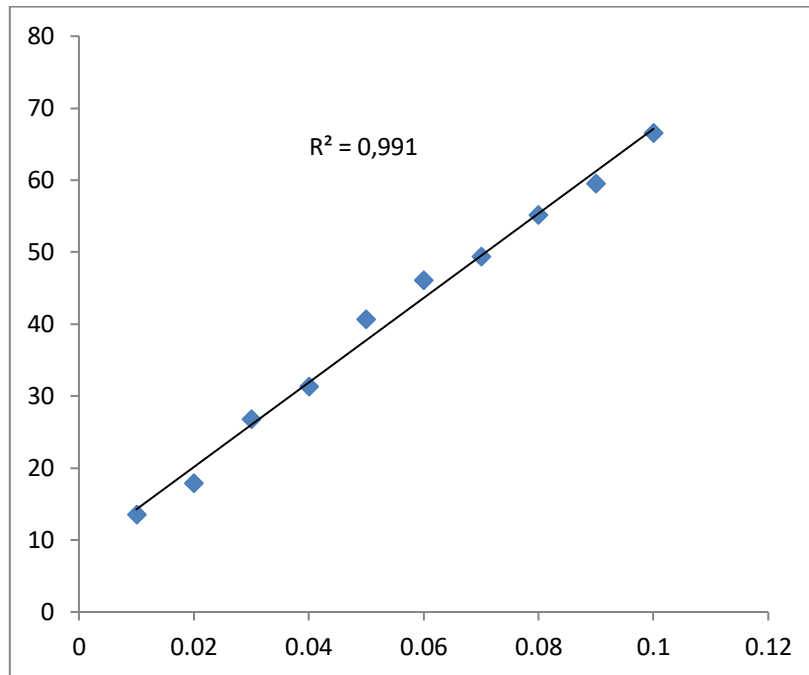
Partie utilisée	Racine	Feuille	Fruit	Fleur	Graine	Partie aérienne	La plante entière
Pourquoi ?							
Prix 100 g							



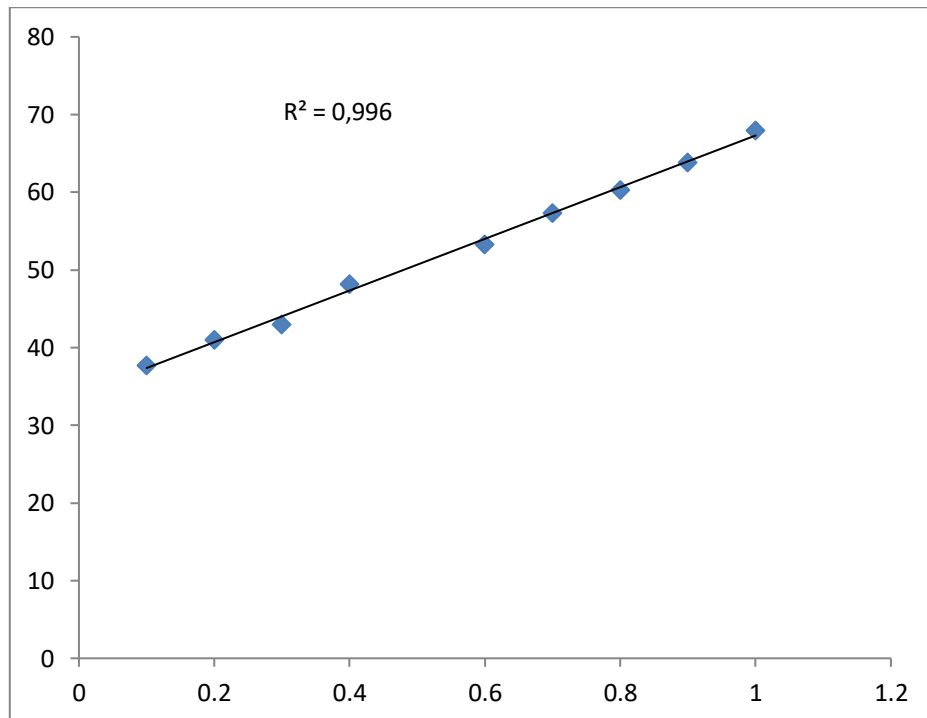
La courbe d'étalonnage de l'acide gallique



La courbe d'étalonnage de quercitrine

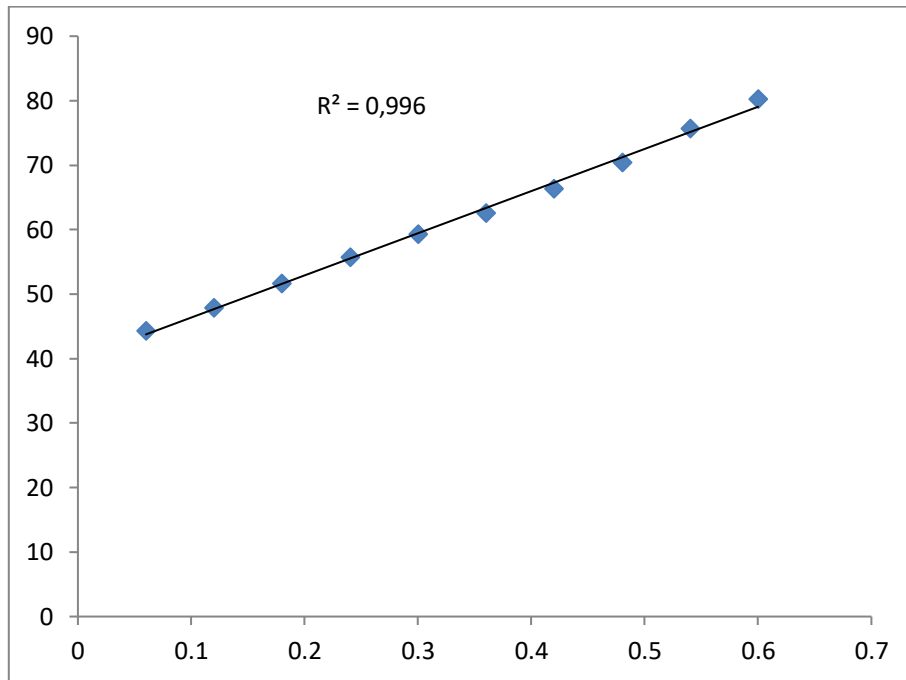


- **La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Asteriscus graveolens***

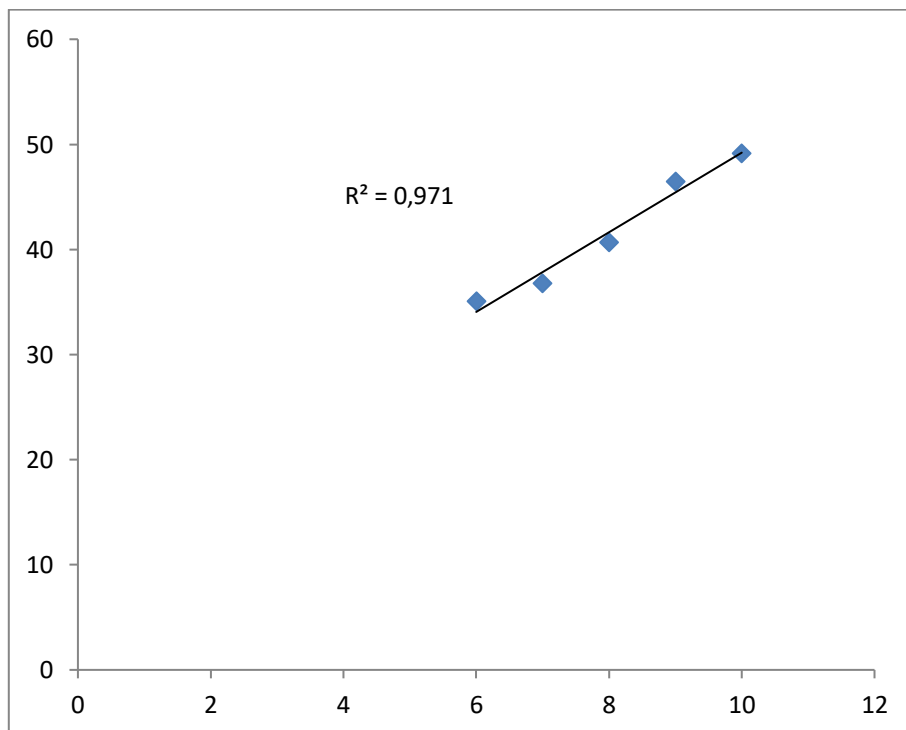


La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Ruta tuberculata*

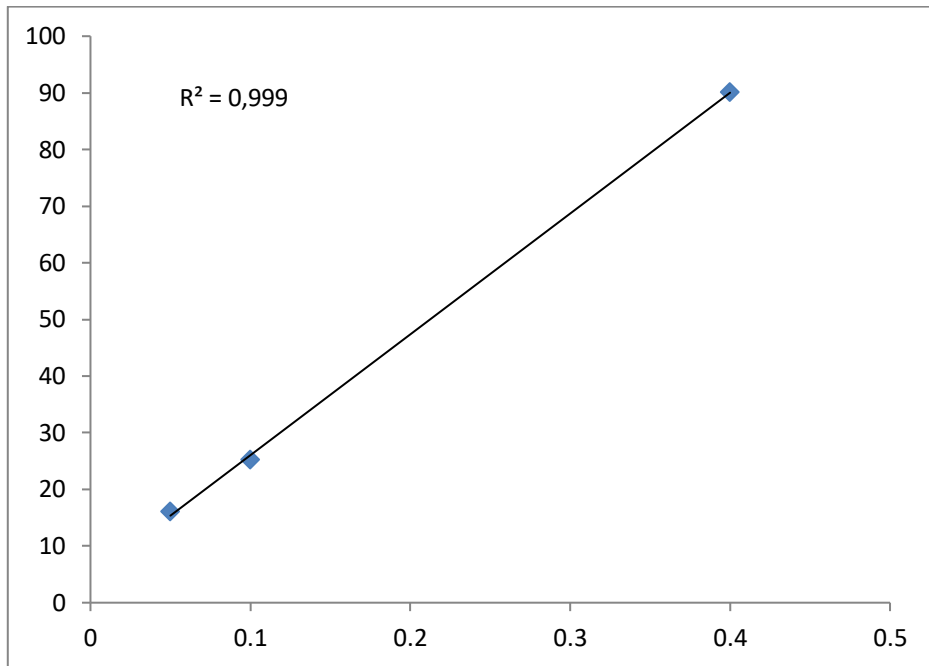
Annexe



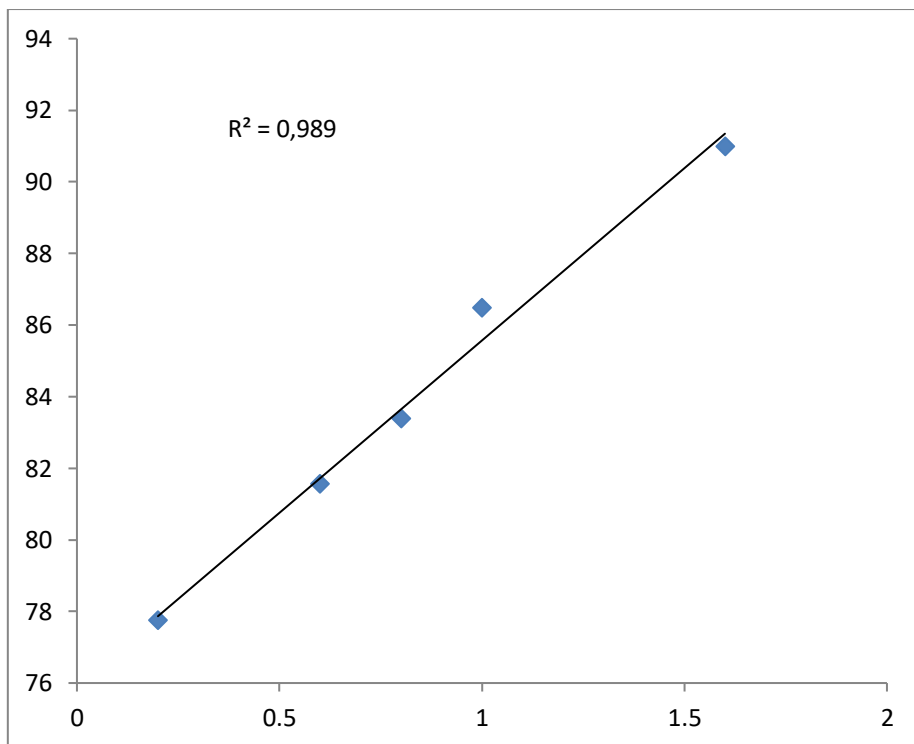
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Atractylis delicatula*,



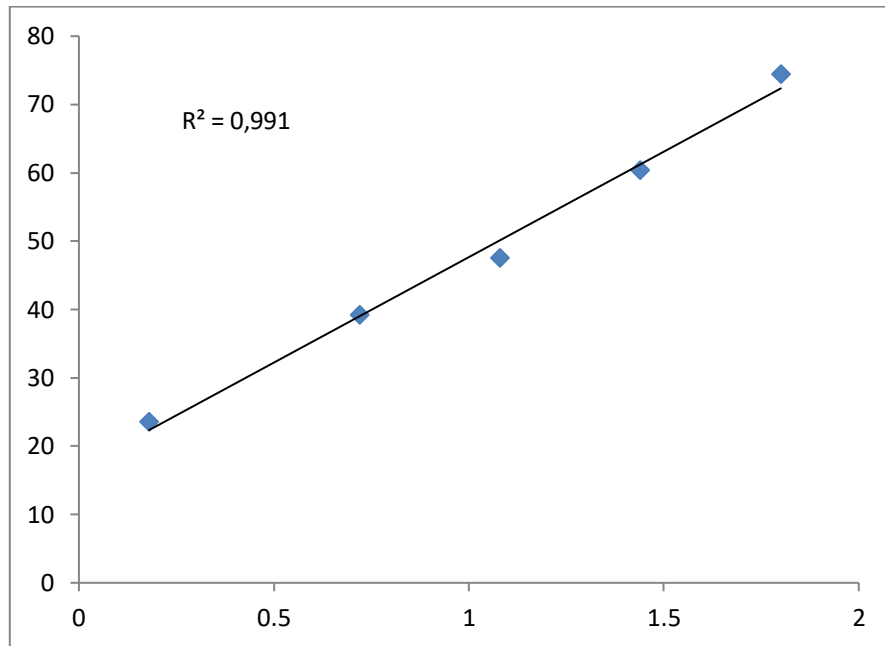
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Asphodelus microcarpus*,



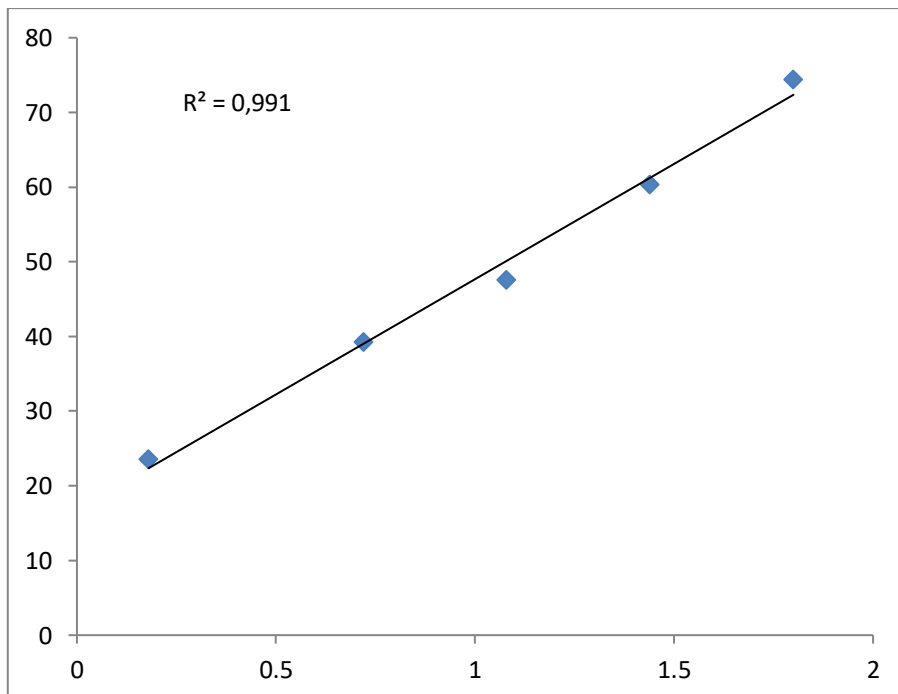
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Cistanche tinctoria*



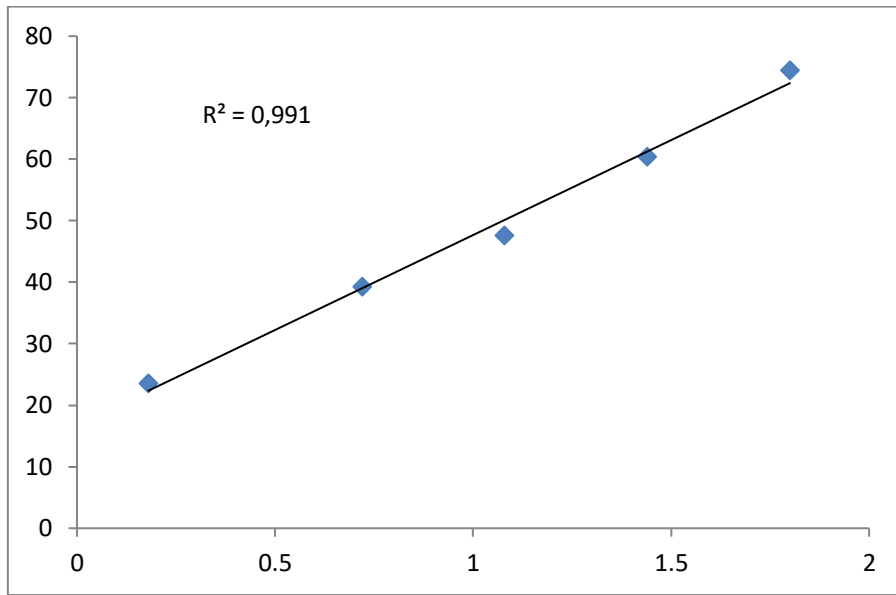
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de DCM du *Ammodaucus leucotrichus*



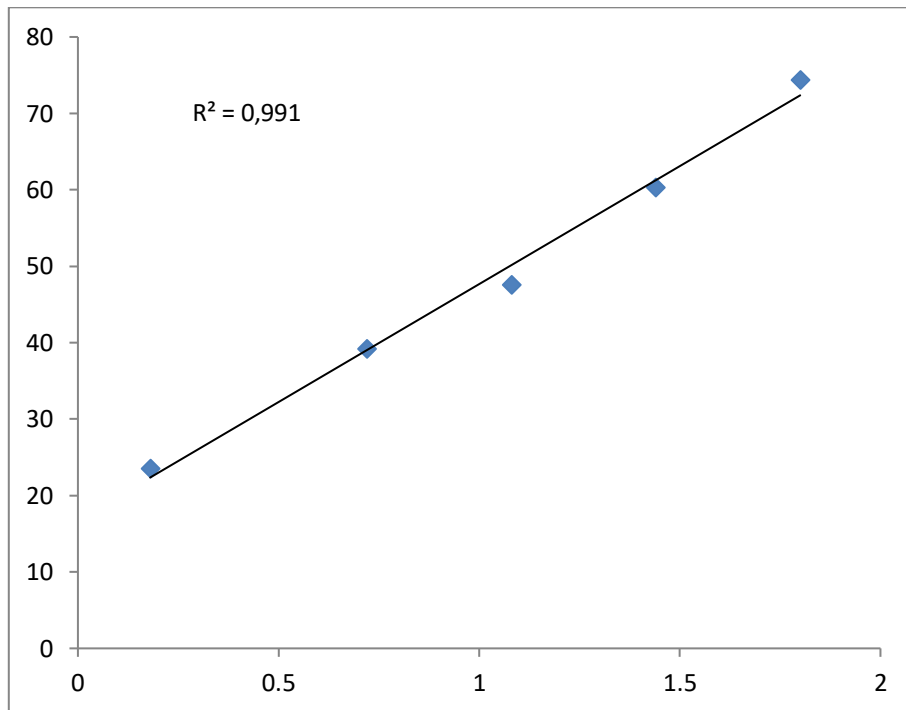
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de acétate d'éthyle du *Asphodelus microcarpus*,



La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de acétate d'éthyle du *Ruta tuberculata*

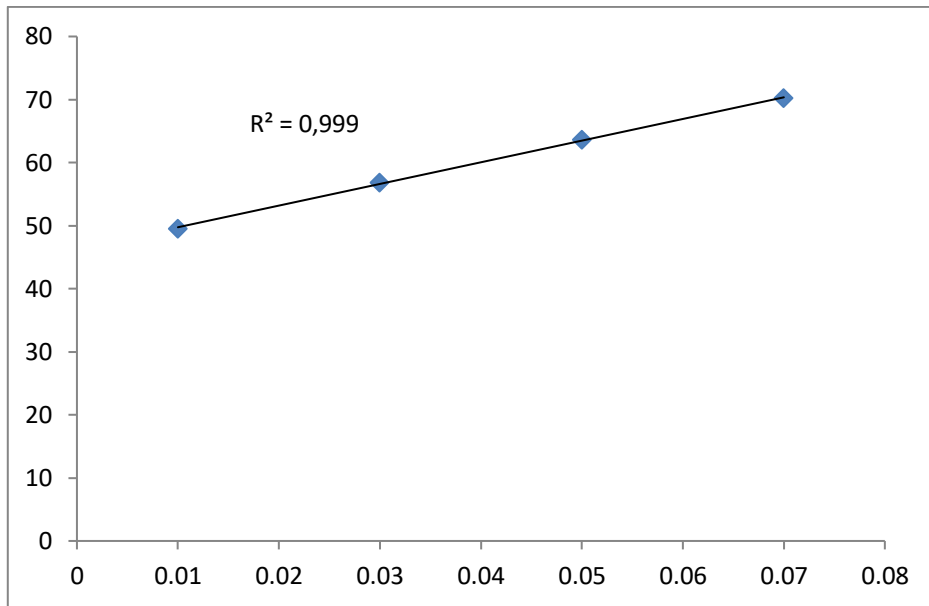


La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de acétate d'éthyle du *Cistanche tinctoria*

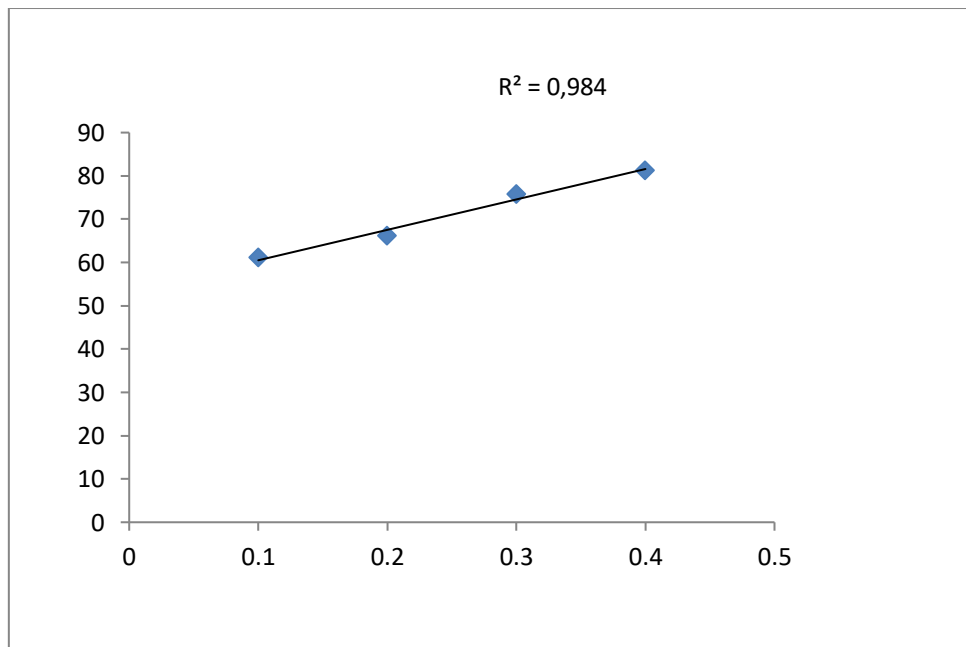


La Courbe d' IC₅₀ de l'extraie de acétate d'éthyle du *Asteriscus graveolens*

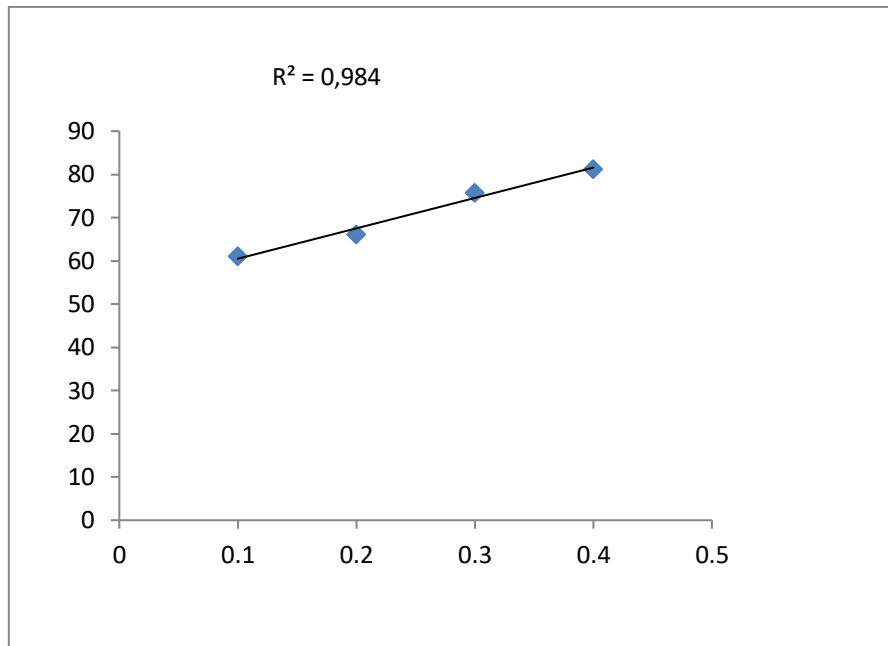
Annexe



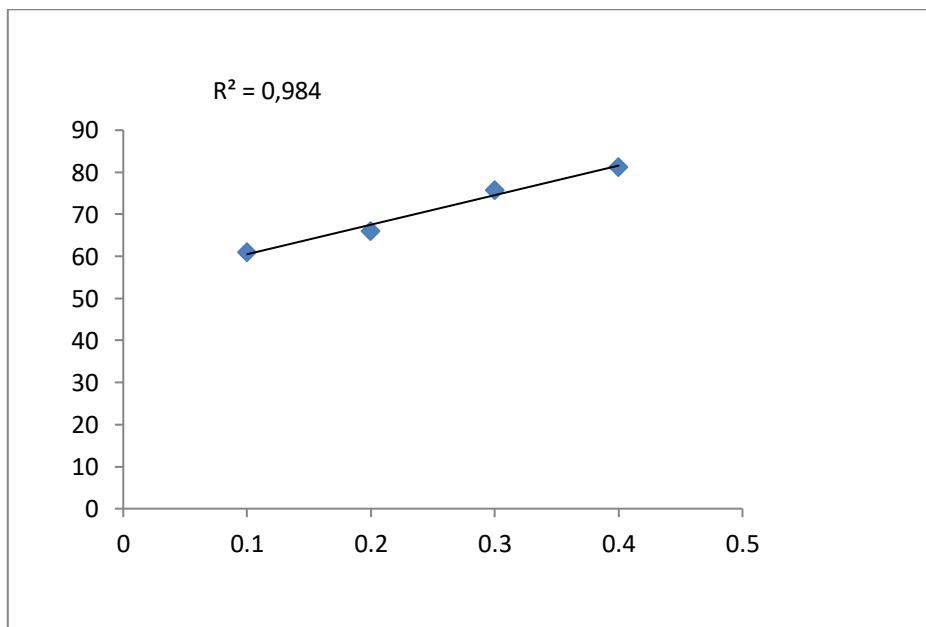
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de acétate d'éthyle du *Atractylis delicatula*



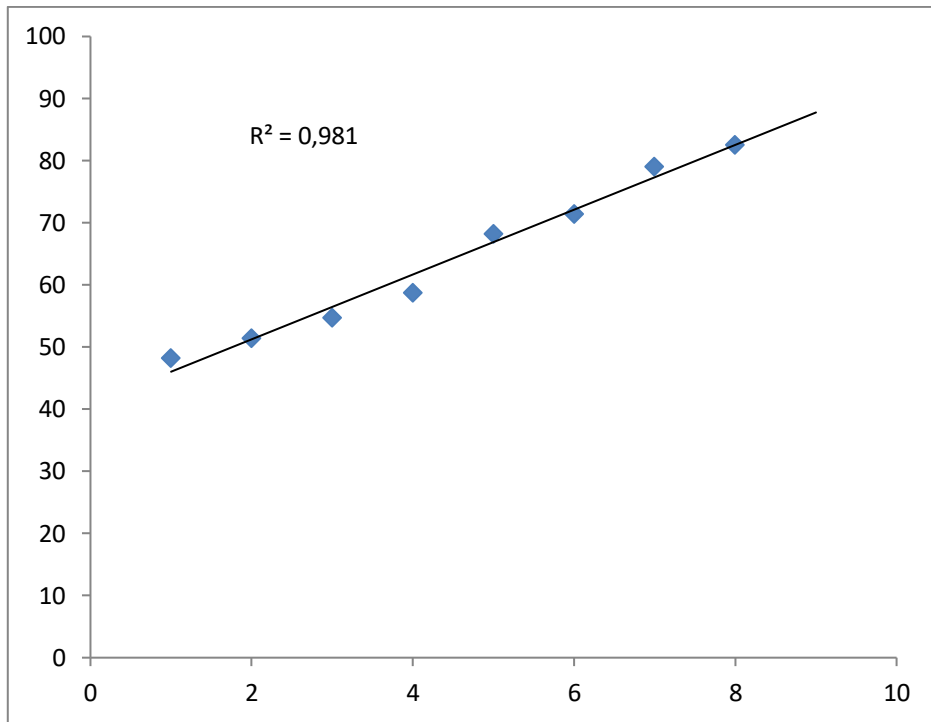
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait de acétate d'éthyle du *Ammodaucus leucotrichus*



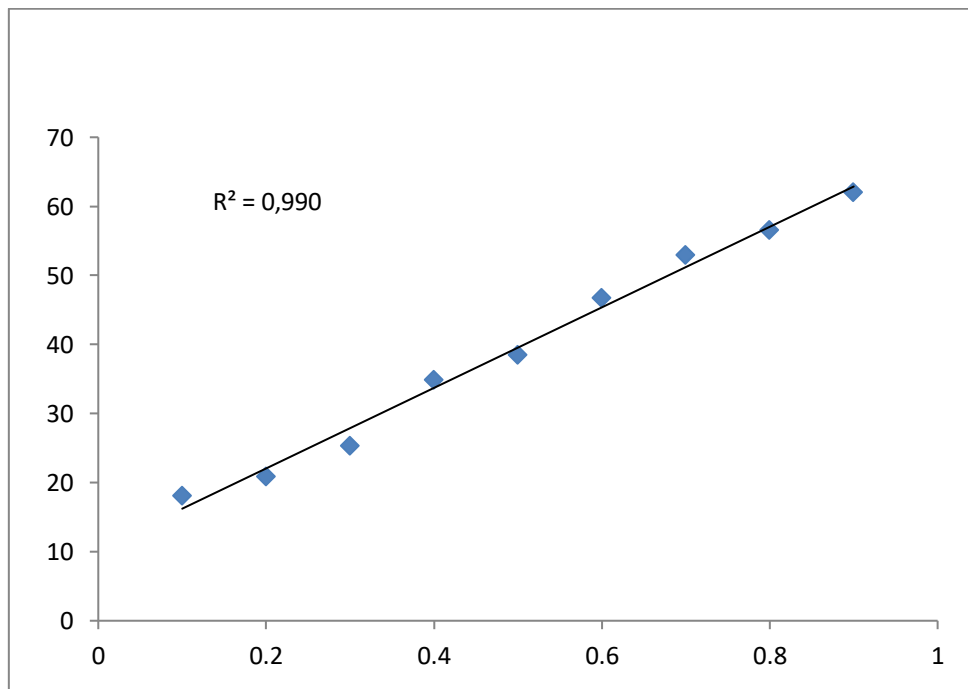
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait d'éthanol du *Ruta tuberculata*



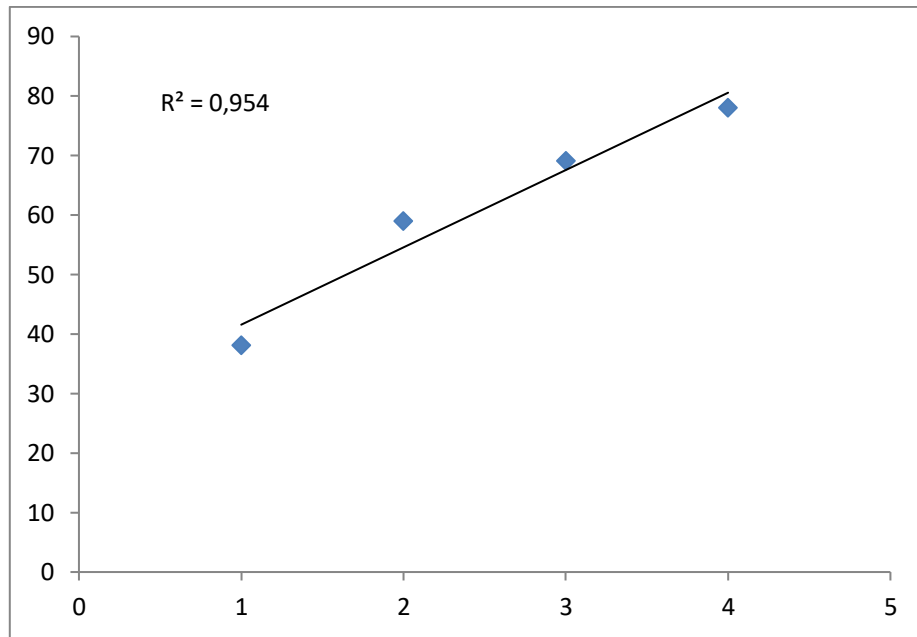
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait d'éthanol du *Atractylis delicatula*



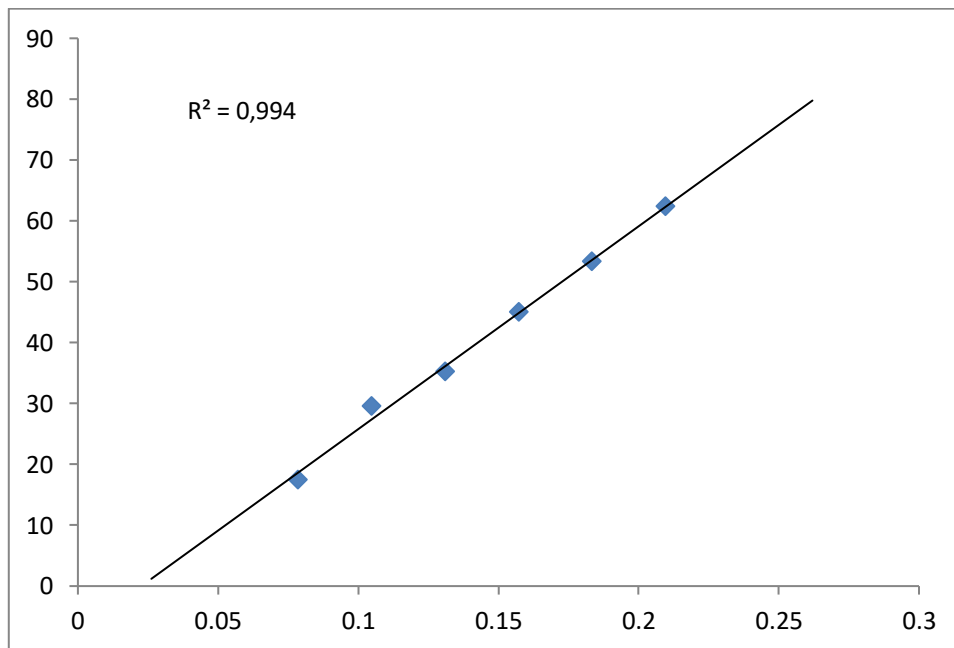
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait d'éthanol du *Asphodelus microcarpus*,



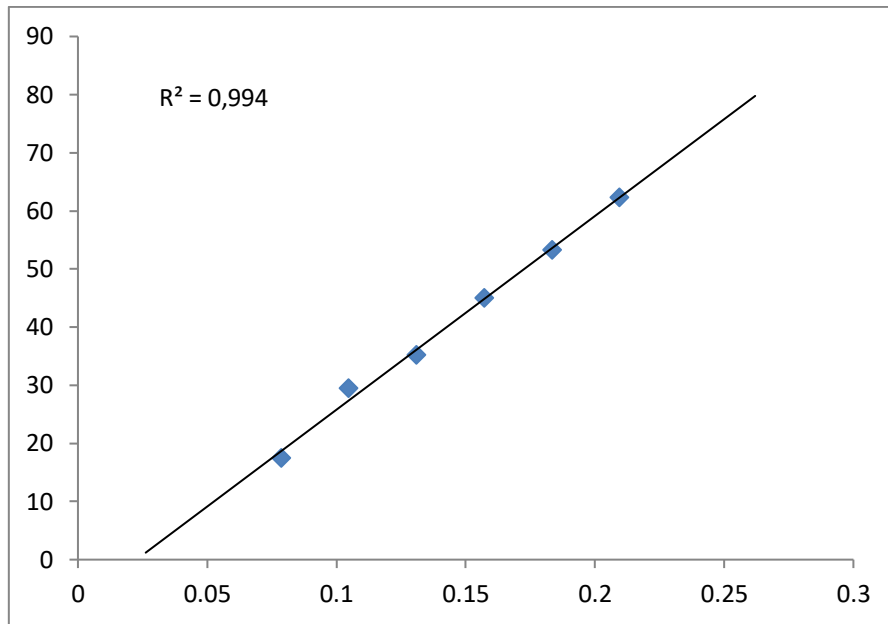
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait d'éthanol du *Cistanche tinctoria*



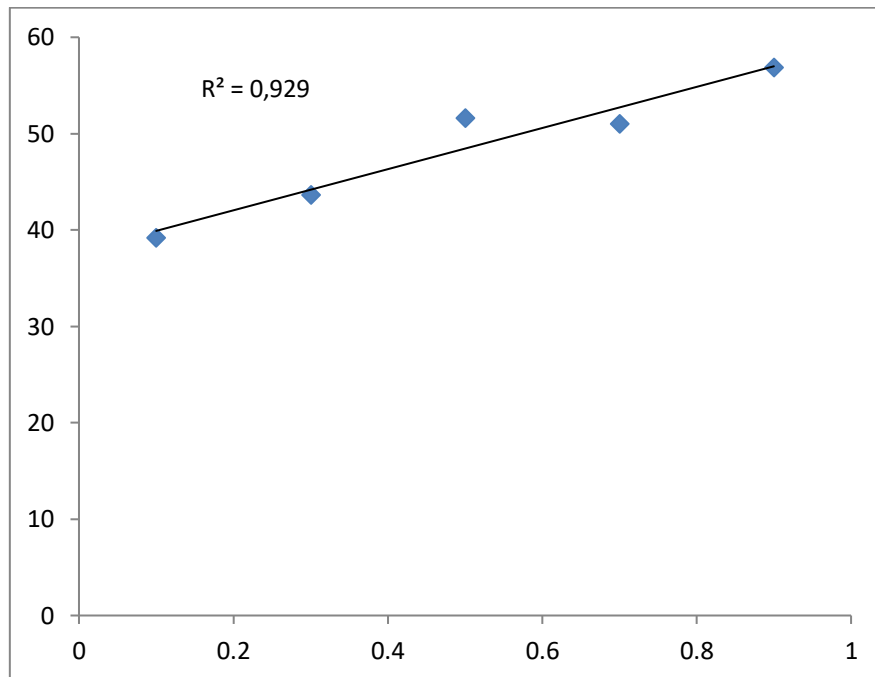
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait d'éthanol du *Ammodaucus leucotrichus*



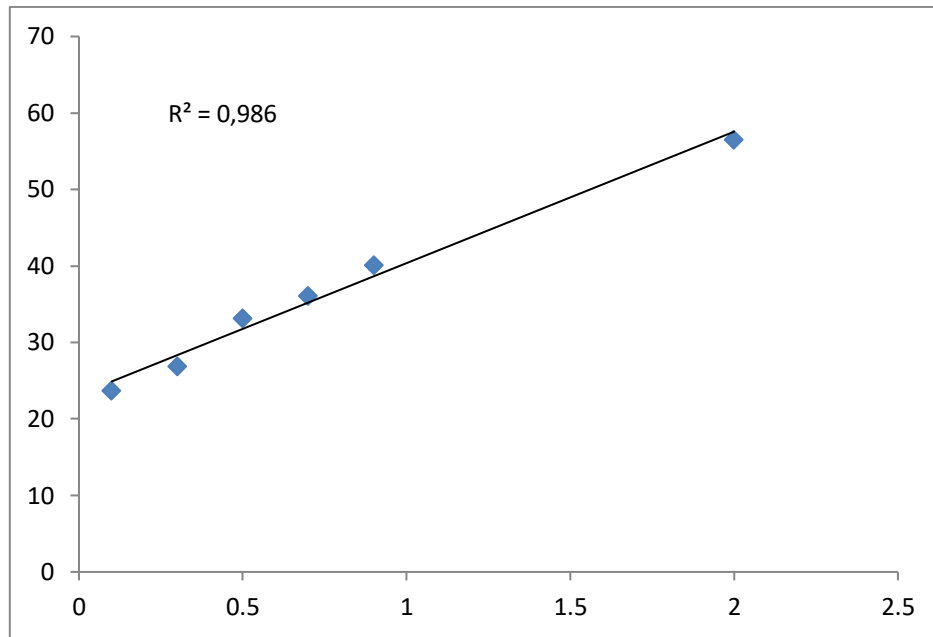
La Courbe d' IC₅₀ de l'extraie méthanol du *Ruta tuberculata*



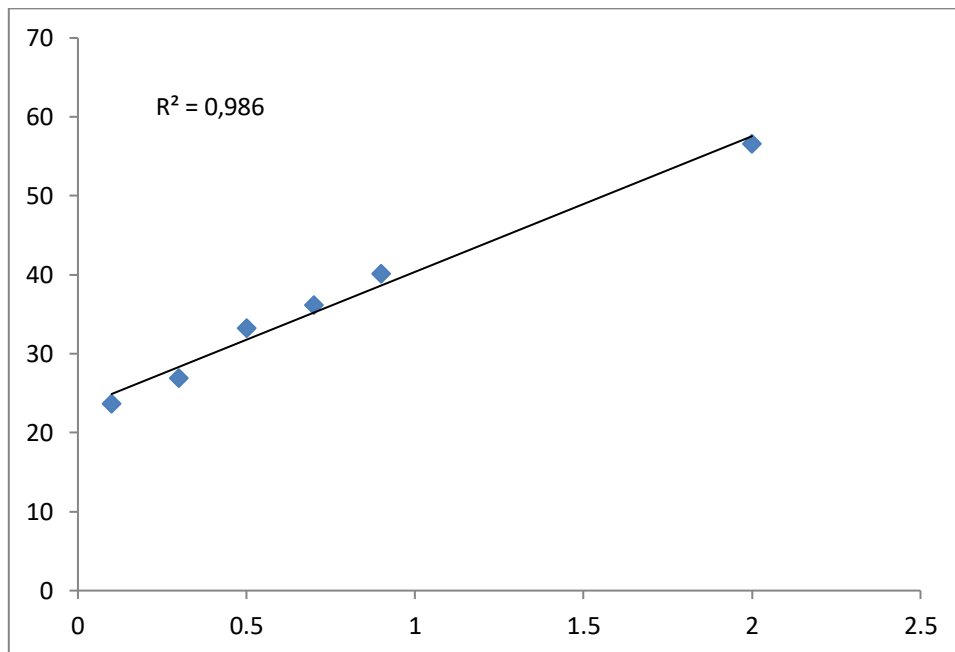
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait méthanol du *Atractylis delicatula*



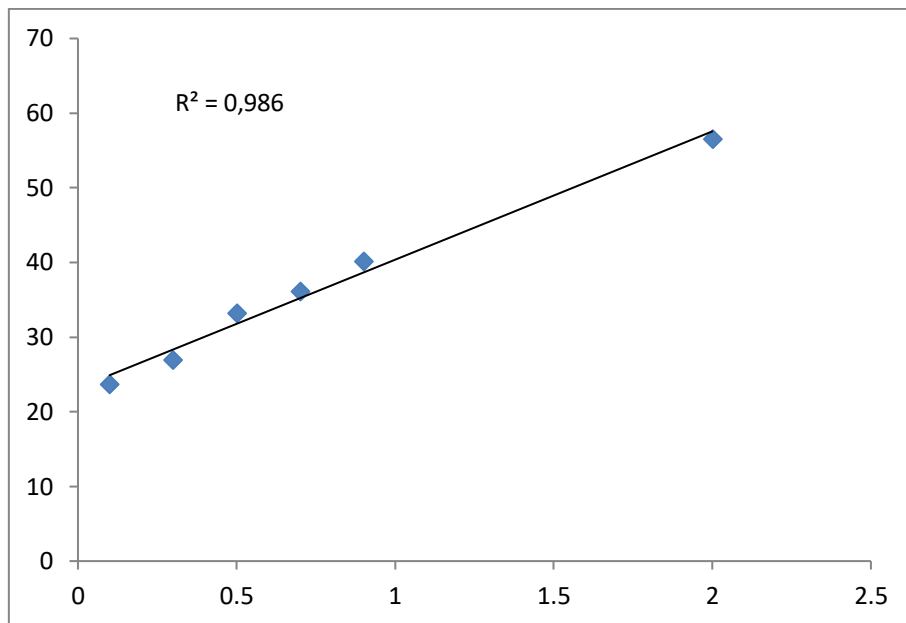
La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait méthanol du *Cistanche tinctoria*



La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait méthanol du *Ammodaucus leucotrichus*



La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait méthanol du *Asphodelus microcarpus*,



La Courbe d' IC₅₀ de l'extrait méthanol du *Asteriscus graveolens*

ملخص :

تندرج دراستنا في إطار المساهمة في تنمية الثروة النباتية لمنطقة الاغواط كمصدر لمواد طبيعية نشطة . في هذا النطاق اهتمنا بدراسة ستة نباتات محلية *Atractylis delicatula* ، *Asphodelus microcarpus* ، *Ammodaucus leucotrichus* ، *Bubonium graveolens* ، *Ruta tuberculata* و *Cistanche tinctoria* .

تمثلت الخطوة الاولى في هذه الدراسة في الاتخلاص و التحليل الكمي للمركبات الفينولية ثم درسنا آثارها المثبطة على ألفا-أميل

تراوحت كمية المركبات الفينولية ما بين 0.03 و 7.73 مغ من حمض غالويك المكافئ / غرام من المادة الجافة . بينما يتراوح محتوى الفلافونويد المعبر عنه في روتين ما بين 0.03 و 2.10 مغ/غرام .

اظهرت جميع المستخلصات تأثير تثبيطي على الفا-اميلاز وذلك بقيم تتراوح بين 0.01 و 13.20 مغ/لتر ؛ حيث تم تسجيل افضل التثبيطات في المستخلصات التالية : الايثانول ، الميثانول و الاسياتات ديثيل ، وذلك في النباتات التالية

Atractylis delicatula et *Ruta tuberculata* et *Cistanche tinctoria* L $IC_{50} = 0.01$ mg/ml .

قدم هذا العمل معرفة جديدة حول النباتات المحلية وسلط الضوء على البوليفينول الطبيعي في تعديل اضطرابات نسبة السكر في الدم .

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية التأثير المثبط ألفا-أميلاز مضاد لمرض السكري .

Résumé :

Notre étude rentre dans le cadre d'une contribution à la mise en valeur du règne végétal de la région de Laghouat comme source de substances bioactives naturelles. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à six plantes locales (*Ammodaucus leucotrichus*, *Asphodelus microcarpus*, *Atractylis delicatula*, *Bubonium graveolens*, *Cistanche tinctoria* et *Ruta tuberculata*). La première démarche dans cette étude, consistait en une extraction et une quantification des composés phénoliques ensuite nous avons étudié leurs effets inhibiteurs sur l'a-amylase. Le contenu en phénols totaux est compris entre 0.03 et 7.73 mg en équivalent d'acide gallique / g de la matière sèche. Tandis que le contenu en flavonoïdes exprimé en équivalent de la rutine est compris entre 0.03 et 2.10 mg/g.

Tout les extraits ont montré des effets inhibiteurs sur l' a-amylase, avec des valeurs d'IC₅₀ qui varient de 0.01 à 13.20 g l dont la meilleure inhibition (IC₅₀ = 0,01 mg/ml), a été enregistré pour les extraits : acétate d'éthyle méthanol et éthanol des échantillons de *Atractylis delicatula* et *Ruta tuberculata* et *Cistanche tinctoria* L respectivement

fail a fourni de nouvelles connaissances au sujet des plantes locales de plus il a permis de mettre en évidence le rôle yphénols naturels dans la normalisation des troubles glycémiques.

Mots clés : plantes spontanées, composés phénoliques, flavonoïde, effet inhibiteur, a-amylase.

Abstract :

Our study is part of a contribution to the development of plants in the region of Laghouat as a source of natural bioactive substances. In this context we were interested in six local plants (*Ammodaucus leucotrichus*, *Asphodelus microcarpus*, *Atractylis delicatula*, *Bubonium graveolens*, *Cistanche tinctoria* et *Ruta tuberculata*). The first step in this study consisted in the extraction and the quantification of the phenolic compounds then we studied of their inhibitory effects on the a-amylase.

The content of total phenolics ranged from 0.03 to 7.73 mg gallic acid equivalent / g of the dry matter. While the flavonoid content expressed in rutin equivalent ranged from 0.03 to 2.10 mg/g.

All extracts showed an inhibitory effects on c.-amylase, with IC₅₀ values ranging from 0.01 to 13.20 g/l, whose the best inhibition (IC₅₀ = 0.01 mg/ml) has been recorded for ethyl acetate, methanol and ethanol extracts of *Atractylis delicatula* and *Ruta tuberculata* and *Cistanche tinctoria* L samples respectively .

This work has provided a new knowledge about local plants and is a contribution to the study of the role of natural polyphenols in regulating the normalization of glycemic disorders.

Key words: spontaneous plants, phenolics coumpounuds, flavonoids, inhibitory effect, a-amylase,

